

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**Departamento de Ecología**



**MECÁNICA DE POBLACIONES CELULARES ELÁSTICAS:  
ECOLOGÍA DE LA RESPUESTA INMUNITARIA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR**

**Clemente Fernández Arias**

Bajo la dirección del doctor

Francisco J. Acosta Salmerón

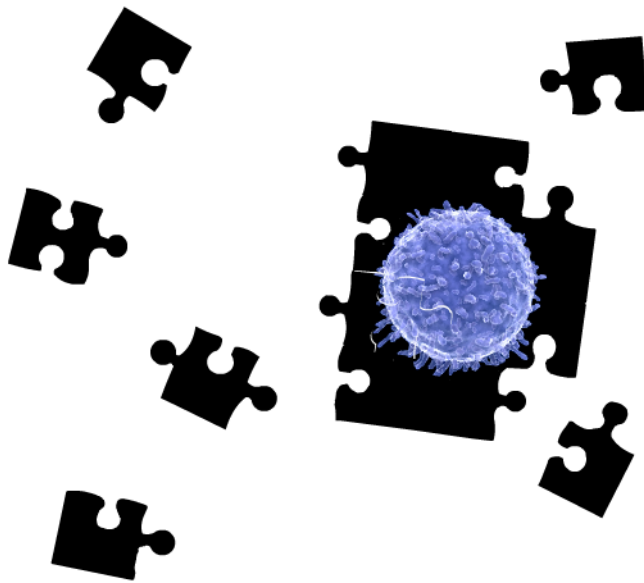
**Madrid, 2012**

# MECÁNICA DE POBLACIONES CELULARES ELÁSTICAS

## Ecología de la respuesta inmunitaria

---

Clemente Fernández Arias



**TESIS DOCTORAL**

---

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA. FACULTAD DE BIOLOGÍA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID 2012



# **Mecánica de poblaciones celulares elásticas. Ecología de la respuesta inmunitaria**

Clemente Fernández Arias



Universidad Complutense de Madrid  
Facultad de Biología  
Departamento de Ecología

2012



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

---

Facultad de Ciencias Biológicas  
Departamento de Ecología



**Mecánica de poblaciones celulares elásticas.  
Ecología de la respuesta inmunitaria**

Memoria presentada por Clemente Fernández Arias para optar al grado de  
Doctor en Ciencias Biológicas.

Vº Bº Director

Francisco J. Acosta Salmerón

---

Madrid, Marzo de 2012



# Agradecimientos





*"Writing in the last months of this millennium, it is clear that the prime intellectual task of the future lies in constructing an appropriate theoretical framework for biology."*

Sydney Brenner



# Índice general

<b>Agradecimientos</b>	<b>v</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivos . . . . .	5
1.2. Estructura del texto . . . . .	7
 <b>I La dinámica de las poblaciones de células T CD8+ como comportamiento emergente</b>	 <b>9</b>
 <b>2. El papel de los linfocitos T en la respuesta inmunitaria</b>	 <b>11</b>
2.1. El sistema inmunitario innato . . . . .	11
2.2. La activación de los linfocitos T . . . . .	13
2.3. Expansión y contracción clonal y memoria inmunitaria . . . . .	16
2.4. El programa intrínseco de las células T . . . . .	17
 <b>3. Ser dos o no ser: la elección entre la división celular y la apoptosis en los linfocitos T CD8+. Hipótesis biológicas</b>	 <b>19</b>
3.1. El ciclo celular y la apoptosis en los linfocitos T CD8+ . . . . .	20
3.2. Hipótesis 1. Dos moléculas controlan el destino celular . . . . .	24
3.3. Los receptores de membrana y los inhibidores del ciclo celular y la apoptosis de los linfocitos T . . . . .	26
3.3.1. Control poblacional del destino celular . . . . .	28
3.3.2. Control individual del destino celular . . . . .	31

3.4.	Hipótesis 2. Los receptores de membrana determinan el destino de los linfocitos T . . . . .	32
3.5.	Hipótesis 3. El efecto de los receptores de membrana es aditivo .	34
3.6.	Hipótesis 4. División asimétrica de las células T naïve CD8+ . .	38
<b>4.</b>	<b>Formalización del programa intrínseco de los linfocitos T CD8+</b>	<b>45</b>
4.1.	Estados discretos del modelo. Fases en la vida de los linfocitos . .	47
4.2.	Estados continuos del modelo. Dinámica de los inhibidores y los receptores de membrana . . . . .	48
4.3.	Modelo 1. Los linfocitos T como autómatas híbridos . . . . .	51
4.4.	Modelo 2. Interacción entre los linfocitos T durante la respuesta inmunitaria . . . . .	53
4.4.1.	Hipótesis 5. Dinámica del patógeno durante la respuesta inmunitaria . . . . .	53
4.4.2.	Hipótesis 6. Los receptores de membrana se reparten entre las células hijas tras la división celular . . . . .	54
<b>5.</b>	<b>Comportamientos poblacionales emergentes de las células T CD8+</b>	<b>57</b>
5.1.	Inicio de la contracción clonal . . . . .	58
5.2.	El origen de la memoria inmunológica . . . . .	61
5.3.	El comportamiento colectivo de los linfocitos T CD8+ emerge de la ejecución del programa intrínseco . . . . .	62
5.4.	La dinámica poblacional de linfocitos T se adapta a distintos agentes patógenos . . . . .	64
5.5.	El número de divisiones tras la activación de las células naïve es un resultado emergente del programa intrínseco . . . . .	65
<b>II</b>	<b>Ecología de las poblaciones de linfocitos T CD8+</b>	<b>67</b>
<b>6.</b>	<b>Sistemas depredador–presa en poblaciones celulares elásticas</b>	<b>69</b>
6.1.	Modelos depredador–presa clásicos en inmunología . . . . .	70
6.2.	Células T y hormigas. Sistemas elásticos . . . . .	72
6.3.	Hacia una mecánica de poblaciones de los linfocitos T. La fuerza antigénica . . . . .	75

6.3.1. Hipótesis 7. Las poblaciones de linfocitos T CD8+ son poblaciones celulares elásticas . . . . .	76
6.3.2. Hipótesis 8. La presencia del patógeno actúa como una fuerza que acelera la población de linfocitos efectores . . .	76
6.4. Modelo 3. Los linfocitos T como un sistema elástico: expansión y contracción clonal . . . . .	76
6.5. El origen de las infecciones crónicas . . . . .	78
6.6. La tolerancia, la autoinmunidad y la inmunovigilancia . . . . .	81
6.6.1. Conjetura del límite de velocidad en el origen de la tolerancia inmunológica. Redefinición del yo inmunológico . .	83
<b>7. Competencia en poblaciones celulares elásticas</b>	<b>89</b>
7.1. Homeostasis de las células T CD8+ naïve y memoria . . . . .	89
7.1.1. Modelos clásicos de competencia ecológica en inmunología	91
7.1.2. Hipótesis 9. Las citoquinas responsables de la homeostasis actúan como una fuerza sobre las poblaciones de células T	93
7.2. Modelo 4. Homeostasis de una población de linfocitos . . . . .	94
7.3. El nicho ecológico de los linfocitos T . . . . .	97
7.4. Hipótesis 10. Las fuerzas que actúan sobre las poblaciones de linfocitos son aditivas . . . . .	97
7.5. Hipótesis 11. Competencia por reparto de fuerzas . . . . .	98
7.6. Modelo 5. Competencia por una citoquina homeostática entre dos poblaciones elásticas . . . . .	98
7.7. Modelo 6. Homeostasis del número de células T CD8+ naïve y memoria . . . . .	100
<b>8. Interacciones complejas en poblaciones celulares elásticas</b>	<b>105</b>
8.1. Modelo 7. La fuerza antigénica y la fuerza homeostática en la formación de la memoria inmunitaria . . . . .	106
8.1.1. El tamaño de memoria inmunitaria. Vacunas y adyuvantes	108
8.2. Modelo 8. Inmunodominancia . . . . .	114
<b>9. Síntesis</b>	<b>119</b>
9.1. Conclusiones . . . . .	128
<b>Apéndice A. Autómatas híbridos</b>	<b>131</b>

Apéndice B. Modelo híbrido de la vida de los linfocitos T	135
10.Apéndice C. Equilibrio del Modelo 4	139
Bibliografía	141

# Capítulo 1

## Introducción

*“We feel clearly that we are only now beginning to acquire reliable material for welding together the sum total of all that is known into a whole; but, on the other hand, it has become next to impossible for a single mind fully to command more than a small specialized portion of it. I can see no other escape from this dilemma (lest our true aim be lost for ever) than that some of us should venture to embark on a synthesis of facts and theories, albeit with second-hand and incomplete knowledge of some of them –and at the risk of making fools of ourselves. So much for my apology.”*

Erwin Schrödinger, What is life?

El sistema inmunitario es un ejemplo paradigmático de sistema complejo. Las células que lo componen no se integran en tejidos y órganos definidos, sino que se mueven libremente por el organismo y llevan una vida independiente más parecida a la de los seres unicelulares que a la de las células de otros sistemas. A pesar de su autonomía, las células inmunitarias son capaces de desplegar una serie de comportamientos colectivos muy sofisticados, que son los responsables de proteger la integridad del individuo frente a las agresiones de agentes patógenos externos y de células que han desarrollado capacidades tumorales. Los linfocitos T juegan un papel central en esta función defensiva, ya que son las encargadas de coordinar el comportamiento de otras células del sistema inmunitario, así como de identificar y eliminar las células que suponen un riesgo para el organismo. En el curso de una respuesta inmunitaria las poblaciones de células T experimentan cambios notables. La detección de una amenaza potencial induce la activación y la proliferación masiva de los linfocitos, de modo que en pocos días pueden llegar a duplicar el tamaño de la población existente antes de la infección. Una vez desaparecido el patógeno, los linfocitos que se han activado y han neutralizado con éxito la agresión deben suicidarse, ya que



en caso contrario, cada episodio de infección supondría la acumulación de millones de células que no son necesarias en el organismo. Así, tras la eliminación del agente infeccioso, el 95 % de los linfocitos T activados ponen en marcha el programa de muerte celular y sus componentes son reciclados, mientras que el 5 % restante sobrevive y proporciona al organismo una memoria inmunológica, capaz de volver a activarse y responder en caso de una nueva infección por parte del mismo agente. A pesar de que se han descrito muchos detalles sobre aspectos parciales de la respuesta inmunitaria, el conocimiento actual sobre el funcionamiento de los linfocitos T está lejos de ser completo.

Además de por su interés práctico evidente (las células T constituyen una diada potencial en el diseño de vacunas y de terapias efectivas contra el cáncer y contra enfermedades autoinmunes), la construcción de una teoría del sistema de las células T supone un reto intelectual atractivo que no se circunscribe al ámbito de la inmunología. En particular, si consideramos que las células inmunitarias son agentes independientes que se mueven por todos los tejidos del organismo e interaccionan entre sí y con su entorno, exhibiendo comportamientos colectivos altamente complejos, es evidente que el sistema inmunológico constituye un objeto de estudio interesante en el contexto de la ecología. Este trabajo surge, precisamente, como un intento de aplicar la teoría de las poblaciones ecológicas al problema de la respuesta inmunitaria de los linfocitos T. La idea de estudiar el sistema inmunitario desde la perspectiva de la teoría ecológica no es nueva y, de hecho, son muchos los modelos propuestos para el estudio del sistema inmunitario que se han inspirado en los modelos de dinámica de poblaciones desarrollados inicialmente en ecología.

En nuestra opinión, sin embargo, el paradigma de la dinámica de poblaciones ecológicas no es el adecuado para el estudio del sistema inmunitario, lo que explica en parte el escaso impacto que han tenido estos modelos en la generación de conocimiento sobre la respuesta inmunitaria. A pesar de la analogía aparente célula-individuo, existe una diferencia fundamental entre las poblaciones ecológicas y los sistemas celulares inmunitarios: mientras que en las poblaciones ecológicas la selección natural actúa sobre el funcionamiento de cada individuo, en el sistema inmunitario el objetivo de la selección natural es el comportamiento colectivo. Conceptos característicos de la teoría ecológica de poblaciones, como la competencia no pueden interpretarse del mismo modo en las poblaciones ecológicas y en los sistemas celulares, mientras que comportamientos individuales como el suicidio celular, que forman parte del funcionamiento normal del sistema inmunitario, carecen de sentido en las poblaciones estudiadas habitualmente en ecología.

Al contrario de lo que ocurre en las poblaciones ecológicas, las poblaciones de células inmunitarias no deben competir entre ellas para acaparar los recursos disponibles, sino que éstos deben ser compartidos entre los distintos tipos celulares para garantizar un funcionamiento colectivo adecuado. La aparición

de células competitivas en el organismo se debe con frecuencia a mutaciones genéticas que alteran el comportamiento normal de la célula y que pueden dar lugar a tumores que pueden acabar con la vida del organismo.

Dado que el comportamiento de los agentes individuales, e incluso su supervivencia, están subordinados a un funcionamiento colectivo que persigue un objetivo común, las células inmunitarias se asemejan más a insectos sociales que a los individuos de una población ecológica. La respuesta defensiva en una colonia de insectos sociales es, de hecho, muy similar a la respuesta inmunitaria de las poblaciones de linfocitos T. Tras la detección de una amenaza para la colonia, individuos especializados en la defensa abandonan el nido y se dirigen al lugar de la agresión. Una vez neutralizada la amenaza regresan al nido, donde pueden ser necesarias para una nueva respuesta.

Tanto las poblaciones de células T como el mecanismo de defensa de las colonias sociales pueden describirse como sistemas elásticos: durante la respuesta a una agresión (al organismo o a la colonia) el sistema se aleja temporalmente de una situación de equilibrio, a la que regresa cuando se ha neutralizado la amenaza. Hay que observar que la vuelta a la situación inicial previa a la respuesta es una parte importante de la función defensiva, que sirve para evitar la acumulación de células en el organismo y la pérdida innecesaria de individuos que todavía son útiles para la colonia.

La elasticidad es, por tanto, una propiedad relevante del funcionamiento de las poblaciones de linfocitos T durante la respuesta inmunitaria. En este trabajo proponemos que el sistema de los linfocitos T es análogo a los cuerpos físicos elásticos estudiados en la mecánica clásica. A partir de esta analogía proponemos una teoría mecánica de las poblaciones de linfocitos en la que las causas del comportamiento de una poblaciones celular se modelizan como fuerzas análogas a las del universo físico, e inducen la aceleración de la población. Esta es una diferencia importante con los modelos clásicos de dinámica de poblaciones, en los que se postula que la interacción entre dos poblaciones se traduce en un efecto positivo o negativo sobre sus tasas de crecimiento, lo que en términos físicos podría expresarse diciendo que las fuerzas no causan aceleración, sino velocidad.

Los modelos clásicos no capturan la naturaleza elástica de las poblaciones de linfocitos y, recíprocamente, producen dinámicas que no se han observado en el sistema inmunitario. Por ejemplo, el comportamiento cíclico característico del modelo depredador-presa o el principio de exclusión competitiva que se deduce de los modelos clásicos de competencia no responden al funcionamiento observado de las poblaciones de linfocitos.

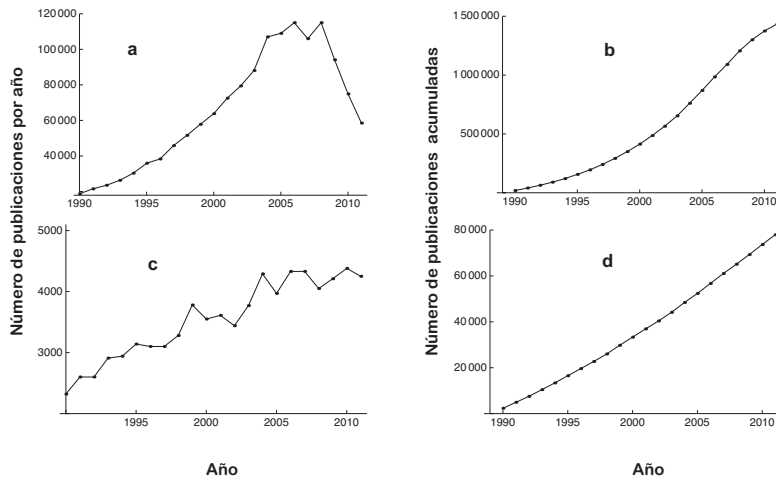
Sin embargo, conceptos ecológicos como la depredación o la competencia pueden definirse en el ámbito de la teoría mecánica de poblaciones celulares que resulta de explotar la analogía anterior y aplicarse con éxito al estudio de

la respuesta inmunitaria. En la segunda parte de este trabajo veremos como los modelos construidos en el marco de esta teoría explican el funcionamiento de las células T y sugieren, además, una hipótesis para origen de la autoinmunidad y la tolerancia inmunológica, problemas centrales en la inmunología actual.

Junto al enfoque macroscópico de la respuesta inmunitaria que se refleja en la formulación de la mecánica de poblaciones celulares, abordamos también el análisis de los mecanismos microscópicos que subyacen al comportamiento del sistema de los linfocitos T durante una infección aguda. El comportamiento colectivo coherente exhibido por las células T en la respuesta inmunitaria es la manifestación macroscópica de las decisiones individuales de dividirse, morir o sobrevivir, tomadas por cada linfocito en cada instante. Es evidente que un inventario del momento y el signo de esta decisión por parte de cada uno de los linfocitos reclutados en el curso de una respuesta inmunitaria reproduciría fielmente la dinámica poblacional observada. Parece, por tanto, que el funcionamiento del sistema de las células T debería poder explicarse a partir de los mecanismos responsables de la determinación del destino celular de los linfocitos durante una respuesta inmunitaria. Sin embargo, aunque se han descrito muchos detalles parciales sobre el ciclo celular y la apoptosis en los linfocitos T, los mecanismos que subyacen a la decisión entre la división y la muerte celular se desconocen en la actualidad. En nuestra opinión, este hecho no se debe exclusivamente a la falta de evidencias empíricas decisivas. Al contrario, el ritmo de aparición de artículos relacionados con distintos aspectos de la biología de las células T (ver figura 1.1) complica el seguimiento efectivo del conocimiento real disponible y supone, paradójicamente, una de las mayores dificultades a la hora de construir una teoría completa del funcionamiento de los linfocitos T. La inmunología sigue teniendo una vocación eminentemente empírica y, más que buscar teorías generales, tiende a dar explicaciones parciales construidas *ad-hoc* para interpretar cada resultado experimental. Sin embargo, la acumulación de evidencias empíricas no equivale a la generación de conocimiento y, desde luego, no es suficiente para explicar los fenómenos observados si no se complementa con la elaboración de teorías generales.

En este trabajo proponemos que la dinámica colectiva característica de las células T en la respuesta inmunitaria es la consecuencia lógica e inevitable de la ejecución, en cada linfocito, de un programa celular intrínseco que se pone en marcha tras la detección de una amenaza por parte del sistema inmunitario y determina la elección entre la división y la muerte celular en función del encuentro del linfocito con el patógeno.

El paradigma del programa intrínseco proporciona el marco teórico en el que integrar el conocimiento actual sobre los procesos de división y muerte celular: los mecanismos celulares involucrados en la progresión del ciclo celular y la puesta en marcha del programa de apoptosis son elementos complementarios de un algoritmo común que tiene como función la decisión del destino celular



**Figura 1.1:** Resultado de la búsqueda la expresión “T cell” en [www.scholar.google.com](http://www.scholar.google.com) desde 1990 hasta 2011. a) Número de publicaciones por año. b) Número acumulado de publicaciones. c) y d) Número de publicaciones por año y acumuladas respectivamente que aparecen restringiendo la búsqueda a artículos que contienen la frase “T cell” en su título.

y, en último término el comportamiento poblacional coherente de los linfocitos T.

## 1.1. Objetivos

En la primera parte de este trabajo describimos el comportamiento característico de los linfocitos T CD8+ durante una respuesta inmunitaria y revisamos el conocimiento actual sobre los mecanismos moleculares responsables de la decisión entre el ciclo celular y la apoptosis en los linfocitos T CD8+. El paradigma del programa intrínseco permite seleccionar una serie de hipótesis en las que se identifican los mecanismos celulares necesarios y suficientes para formular un modelo del algoritmo de decisión del destino celular en los linfocitos T. A continuación, las hipótesis biológicas se formalizan en el contexto de los autómatas híbridos, lo que permite construir un modelo matemático del programa intrínseco de las células T. Por último, las simulaciones numéricas del modelo muestran que tanto la elección entre división y muerte en cada linfocito, como el comportamiento colectivo exhibido en el curso de una respuesta inmunitaria a una infección aguda son resultados emergentes de este programa intrínseco.

En la segunda parte del trabajo se analiza el funcionamiento de las pobla-

ciones de linfocitos T desde una perspectiva macroscópica y se enuncian los axiomas que permiten formular una teoría mecánica de los sistemas celulares elásticos. La teoría mecánica de poblaciones se concreta en la construcción modelos de complejidad creciente que reproducen con éxito los comportamientos característicos de los linfocitos T.

Como resultado del enfoque macroscópico y microscópico, que se traducen en la formulación del programa intrínseco de las células T y de la teoría de la mecánica de poblaciones, nos proponemos dar una respuesta a los siguientes problemas:

- Cuál es el papel de proteínas que inhiben la progresión del ciclo celular y de la apoptosis en los linfocitos T CD8+.
- Para qué sirve el feedback entre los receptores de membrana descrito en los linfocitos T CD8+.
- Cómo deciden las células T CD8+ cuándo tienen que dividirse y cuándo tienen que morir en el curso de una infección aguda.
- Qué mecanismos explican el inicio de la contracción clonal y la formación de una memoria inmunológica.
- Cómo coordinan las células T CD8+ su comportamiento para lograr una dinámica poblacional coherente durante la respuesta inmunitaria.
- Cuál es el origen las infecciones crónicas.
- Qué mecanismos explican la tolerancia a auto-antígenos y la autoinmunidad.
- Cómo se consigue la homeostasis del número de células y clones de células T memoria y naïve.
- De qué depende el tamaño de la memoria específica para un antígeno.
- Cuáles son las causas de la inmunodominancia.
- Formular las bases de una teoría mecánica de las poblaciones celulares a partir de la analogía entre estas poblaciones y los sistemas elásticos estudiados por la mecánica clásica.
- Identificar relaciones depredador-presa y fenómenos de competencia en poblaciones celulares elásticas y formalizarlas en el contexto de la mecánica de poblaciones.

## 1.2. Estructura del texto

Este trabajo está dividido en dos partes en las que se abordan, desde una perspectiva microscópica (celular y molecular) y macroscópica (poblacional) respectivamente, distintos aspectos del comportamiento de las poblaciones de linfocitos T CD8+.

En el Capítulo 2 se revisa el papel de los linfocitos T en la respuesta inmunitaria a infecciones agudas. Además, se identifican algunos de los problemas de la inmunología de las células T que no están resueltos en la actualidad, como son el retraso entre la desaparición del patógeno causante de la respuesta y el inicio de la contracción clonal y los mecanismos de formación de una memoria inmunitaria.

En el Capítulo 3 se establece un vínculo explícito entre la dinámica de las poblaciones de linfocitos T y las decisiones de cada célula de dividirse o morir. Tras una revisión exhaustiva del conocimiento actual sobre el ciclo celular y la apoptosis en células T CD8+, se identifican los mecanismos moleculares que subyacen a esta decisión y se proponen una serie de hipótesis biológicas que se formalizan en el Capítulo 4 y se integran en el marco de los sistemas dinámicos híbridos para construir un modelo de decisión del destino individual. Además, se propone un modelo poblacional basado en los individuos que simula el funcionamiento simultáneo del algoritmo de decisión del destino celular en cada uno de los linfocitos que aparecen en la respuesta inmunitaria.

Los resultados de los modelos introducidos en el Capítulo 4 se muestran en el Capítulo 5. Se demuestra que el comportamiento colectivo coherente desplegado por las poblaciones de linfocitos efectores y memoria en el curso de una respuesta inmunitaria a una infección aguda pueden aparecer como resultados emergentes de un programa intrínseco ejecutado en cada célula, sin necesidad de ningún mecanismo adicional de coordinación entre células.

En la segunda parte del trabajo se aborda el estudio macroscópico de las poblaciones de linfocitos T y se proponen las bases para construir una teoría ecológica de las poblaciones celulares. A partir de la analogía con las colonias de insectos sociales, se identifican las poblaciones de linfocitos como sistemas elásticos y se introduce el concepto de aceleración y fuerza en el contexto de los sistemas celulares.

En el Capítulo 6 se plantean las limitaciones del enfoque de los modelos clásicos de Dinámica de Poblaciones para el estudio de la expansión y la contracción clonal y se propone un modelo de interacción entre los linfocitos efectores y el patógeno basado en la naturaleza elástica de las poblaciones de células T.

En el Capítulo 7 se estudia el fenómeno de la competencia en poblaciones elásticas y se propone un modelo de explicación de la homeostasis de las poblaciones de linfocitos T.

En el Capítulo 8, los modelos de mecánica de poblaciones presentados en los capítulos anteriores se integran en un modelo más general que explica la formación de la memoria inmunitaria tras un episodio de infección aguda y el fenómeno de la inmunodominancia.

## Parte I

# La dinámica de las poblaciones de células T CD8+ como comportamiento emergente





## Capítulo 2

# El papel de los linfocitos T en la respuesta inmunitaria

*“Florey drew my attention to the current state of the lymphocyte field and liked to quote Arnold Rich: «The complete ignorance of the function of this cell is one of the most humiliating and disgraceful gaps in all medical knowledge». Rich was talking about «small lymphocytes» and the «small round cells» of the histopathologists. «Literally nothing of importance», he concluded, «is known regarding the potentialities of these cells». This was the situation in 1953.”*

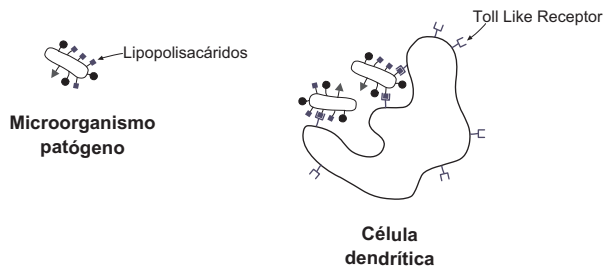
James L. Gowans [1]

### 2.1. El sistema inmunitario innato

Las células inmunitarias son capaces de reconocer estructuras extrañas al organismo y poner en marcha una respuesta adecuada cuyo fin es neutralizar agentes patógenos que suponen un riesgo para la integridad del individuo. Células especializadas en la detección de microorganismos, macrófagos y células dendríticas principalmente, patrullan continuamente los tejidos del cuerpo fagocitando materiales de desecho que se encuentran en los espacios extracelulares. Estas células constituyen el llamado **sistema inmunológico innato** y son las primeras en reaccionar cuando un agente infeccioso supera las barreras físicas del cuerpo.

Las células del sistema innato disponen de **receptores TLR** (Toll Like Receptors), proteínas de membrana que permiten identificar estructuras presentes en la superficie de la mayoría de bacterias y virus. Entre las dianas de los TLR

se encuentran los lipopolisacáridos, lipoproteínas, cadenas dobles de ARN, y otras moléculas que sólo se encuentran en las células de microorganismos potencialmente patógenos y nunca en las células del huésped, de modo que la activación de uno de estos receptores es una señal inequívoca de la presencia de un microorganismo potencialmente peligroso. De hecho, el tipo de TLR activado permite a la célula inmunitaria discriminar entre distintos tipos de agentes infecciosos [2–4] (figura 2.1).



**Figura 2.1:** Las células del sistema inmunitario innato disponen de receptores TLR que reconocen estructuras presentes en la mayoría de los microorganismos patógenos. La activación de un TLR induce la fagocitosis del microorganismo por parte de las células dendríticas.

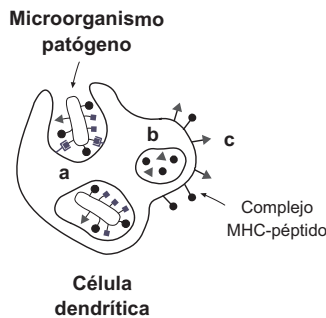
La primera reacción de las células del sistema inmunitario innato tras la detección de una amenaza es la secreción de proteínas denominadas **citoquinas** que actúan como señales de peligro y dan lugar a la inflamación del tejido infectado. En cuestión de minutos, numerosas células inmunitarias son reclutadas desde el torrente sanguíneo hasta el foco de la infección, donde liberan moléculas antimicrobianas y fagocitan células del agente patógeno. La rapidez y la efectividad de la respuesta del sistema inmunitario innato permite que la mayoría de las infecciones sean neutralizadas en esta fase de la respuesta.

Sin embargo, en ocasiones el agente infeccioso escapa al control del sistema innato, lo que pone en marcha la respuesta inmunológica celular, dirigida por las **células T**, que forman parte del **sistema inmunitario adaptativo** y desempeñan un papel clave en la respuesta inmunológica, regulando la actividad de otros componentes del sistema y eliminando las células que suponen una amenaza para el organismo. Dependiendo de su modo de actuación, los linfocitos T se clasifican en células **T-helper** (también llamadas CD4+) y células **T-killer** (CD8+ o citotóxicas). Las células T-helper secretan citoquinas con el objetivo de reclutar y activar a otras células inmunitarias. El ambiente de citoquinas creado por las células T-helper es distinto dependiendo de si el origen de la infección es un virus, una bacteria o un parásito multicelular, lo que permite al sistema inmunológico organizar una respuesta eficaz adaptada al tipo de amenaza. Por otra parte, los linfocitos T-killer son capaces de discriminar

entre las células sanas del organismo y las células que están infectadas o que han desarrollado capacidades tumorales. El nombre de células T-killer proviene precisamente de su habilidad para inducir la muerte programada en las células que son identificadas como enfermas. De este modo consiguen eliminar los patógenos intracelulares que escapan a la acción del sistema innato.

## 2.2. La activación de los linfocitos T

Los linfocitos T se originan en la médula ósea y completan su proceso de maduración en el timo. Cuando abandonan el timo, las células T se encuentran en un estado de inactivación, o **naïve**, y circulan entre los órganos linfoides secundarios a través del sistema linfático y de la sangre. En los órganos linfoides secundarios, principalmente en los ganglios linfáticos, los linfocitos T se encuentran con células dendríticas que llegan desde el foco de la infección tras haber fagocitado células del agente infeccioso. Las proteínas del microorganismo causante de la respuesta inmunitaria son fragmentadas en péptidos de pocos aminoácidos de longitud y transportadas hasta la superficie celular. Estos péptidos, denominados **antígenos**, se quedan unidos a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (**MHC**) que se encuentran en la membrana de las células dendríticas (figura 2.2).



**Figura 2.2:** Los microorganismos reconocidos mediante el TLR son fagocitados (a) por la célula dendrítica. Los fragmentos de proteínas del agente infeccioso son procesados en el interior de la célula (b) y finalmente son transportados a la membrana celular, donde se unen a las moléculas de MHC (c) .

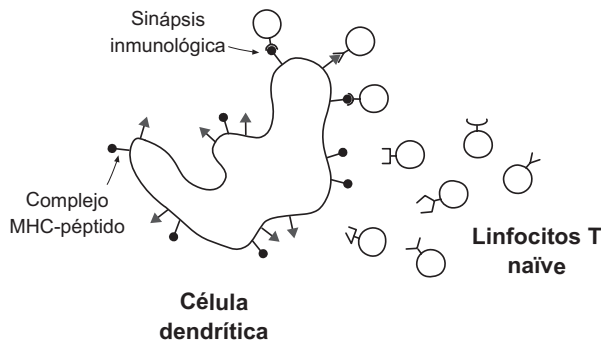
Las células T reconocen los antígenos presentes en la superficie de las células dendríticas mediante proteínas de membrana, los **TCR** (Receptor de la Célula T), cuya estructura tridimensional es complementaria a la de los complejos MHC-antígeno. A diferencia del TLR, que reconoce moléculas de muy distinta naturaleza y se une directamente a las moléculas de los microorganismos, el TCR sólo puede reconocer péptidos de pocos aminoácidos de longitud y exclu-

sivamente cuando se encuentran unidos a los MHC de las células dendríticas.

Todos los TCR de un linfocito (del orden de  $10^5$ ) son idénticos y, además, presentan una distribución clonal, es decir, algunos linfocitos son clónicos y tienen exactamente el mismo TCR. Sin embargo, al mismo tiempo el TCR puede tener formas muy diferente en clones distintos. Es precisamente la heterogeneidad del TCR la que determina los distintos resultados de la interacción entre las células dendríticas y los linfocitos. Si el encaje entre el TCR y el complejo MHC-péptido no es perfecto, la interacción entre ambos dura sólo unos segundos. Sin embargo, si un complejo MHC-péptido en la membrana de una célula dendrítica encaja en el receptor TCR de un linfocito naïve, las dos células se quedan unidas durante varias horas formando lo que se conoce como **sinapsis inmunológica** [5–7].

Por mecanismos que aún se desconocen, las células T naïve discriminan los antígenos propios de los extraños, de manera que si la proteína procede de células del organismo, el linfocito entra en un estado de **anergia** y no se activa (fenómeno conocido como **tolerancia**).

Al contrario, si el antígeno es reconocido como extraño, la célula T se activa y se transforma en una célula **efectora** (figura 2.3). La activación induce cambios en el citoesqueleto del linfocito T [8–10], la expresión de nuevos receptores de membrana y la puesta en marcha de un proceso de diferenciación celular que conlleva cambios profundos en el comportamiento de la célula [11]. En este estado ya es capaz de movilizar otras células inmunitarias, secretar citoquinas para controlar la respuesta inmunológica y migrar al tejido infectado para combatir la infección.



**Figura 2.3:** La sinapsis inmunológica sólo tiene lugar cuando la estructura del TCR de un linfocito T naïve reconoce alguno de los péptidos presentados por la célula dendrítica.

La respuesta inmunitaria debida a los linfocitos difiere en varios aspectos de la respuesta inmunitaria innata. Por una parte, cualquier célula del sistema innato

puede reconocer a un microorganismo mediante sus receptores TLR y atacar directamente a los patógenos, fagocitándolos o uniéndose a ellos y liberando enzimas antimicrobianas que acaban con las células del agente infeccioso. Los linfocitos T por su parte, sólo interaccionan con células del propio organismo, bien para activarlas, o bien para matarlas, y tienen una respuesta mucho más específica, ya que un linfocito T sólo se activa si su TCR reconoce un péptido concreto del patógeno.

Además, mientras que la detección de un patógeno induce directamente la activación de la célula inmunitaria innata, los linfocitos T sólo se activan si encuentran una célula dendrítica cargada con un antígeno compatible con su TCR.

Debido al elevado número de clones presentes en un individuo (se estima que hay del orden de  $10^5$  a  $10^7$  clones diferentes [12, 13]), la probabilidad de que una célula dendrítica “cargada” con un antígeno en su superficie se encuentre con una célula T portadora de un receptor TCR afín por ese antígeno es, a priori, muy baja. La frecuencia de células T específicas para un antígeno concreto se encuentra entre  $10^{-6}$  y  $10^{-5}$ , lo que supone que, por ejemplo en ratones, sólo unas 200 células T son específicas para un antígeno determinado en cada individuo [14–16].

Para facilitar el encuentro entre la células dendríticas cargadas con un antígeno y los linfocitos T capaces de reconocer ese antígeno existen mecanismos destinados a aumentar la frecuencia de los contactos entre las poblaciones de ambos tipos de células. Alrededor de  $25 \cdot 10^9$  células T naïve visitan cada ganglio linfático todos los días, lo que supone que cada célula naïve pasa por todos los ganglios linfáticos cada día. Además, la arquitectura de estos órganos linfoides permite que una única célula dendrítica pueda establecer contacto con 5.000 células T cada hora [17–19]. Gracias a ello, se calcula que bastarían 200 células dendríticas para encontrar un linfocito T naïve que se encontrara a una frecuencia de 1 entre  $10^5$  en tan sólo una hora.

De este modo se consigue que las células T naïve reciban continuamente muestras de posibles patógenos presentes en cualquier tejido del organismo. La gran variedad de receptores TCR disponibles hace que prácticamente cualquier proteína expresada por un microorganismo sea susceptible de desencadenar una respuesta “a su medida” por parte del sistema adquirido mientras que la especificidad de la sinapsis inmunológica garantiza que, en caso de infección, sólo aquellos clones que reconocen proteínas del agente patógeno resultan activadas.

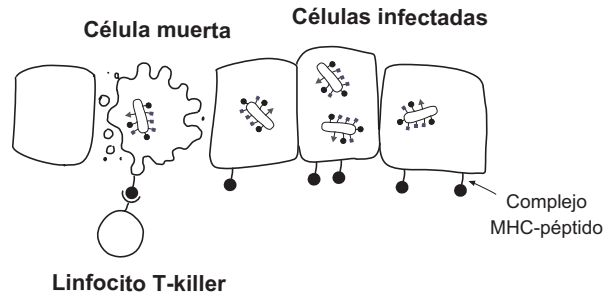
## 2.3. Expansión y contracción clonal y memoria inmunitaria

La elevada tasa de proliferación de la mayoría de los microorganismos patógenos hace que éstos puedan propagarse rápidamente en los tejidos infectados. Para contrarrestar esta capacidad de expansión los linfocitos recién activados proliferan masivamente. En pocos días los linfocitos activados pueden dividirse entre 15 y 20 veces [7, 20], y pasar de unos cientos de células hasta  $10^6$  células en el caso de las células T-helper y  $10^8$  células en el caso de los linfocitos T-killer, llegando incluso a duplicar la población total de linfocitos existente en el organismo antes de la infección [21, 22]. Tras la activación, los linfocitos T-helper pueden quedarse en los ganglios linfáticos, donde activan a otras células inmunitarias, o migrar al tejido infectado para crear el ambiente de citoquinas adecuado para combatir la infección.

Por su parte, las células T-killer abandonan los ganglios linfáticos con el objetivo de identificar las células que han sido infectadas para controlar la expansión del microorganismo patógeno. Prácticamente todas las células del cuerpo expresan MHC iguales a las de las células dendríticas, lo que permite la detección de las células infectadas por parte de los linfocitos T. Algunas de las proteínas que se producen durante el funcionamiento normal de la célula pueden ser fragmentadas en péptidos y transportadas a la membrana, donde se quedan unidas a los MHC de la superficie celular. Cuando la célula está infectada por un virus, éste puede tomar el control de la maquinaria celular para producir sus propias proteínas. En este caso alguno de los péptidos del virus puede acabar unido a los MHC de la célula, lo que permite su identificación por parte del TCR de los linfocitos T-killer activados. La detección de un péptido viral unido al MHC de la superficie de una célula es una señal de que la célula está infectada. El linfocito T-killer activado que reconoce ese antígeno viral mata la célula junto con los virus que están en su interior, reduciendo la posibilidad de que otras células resulten infectadas (figura 2.4).

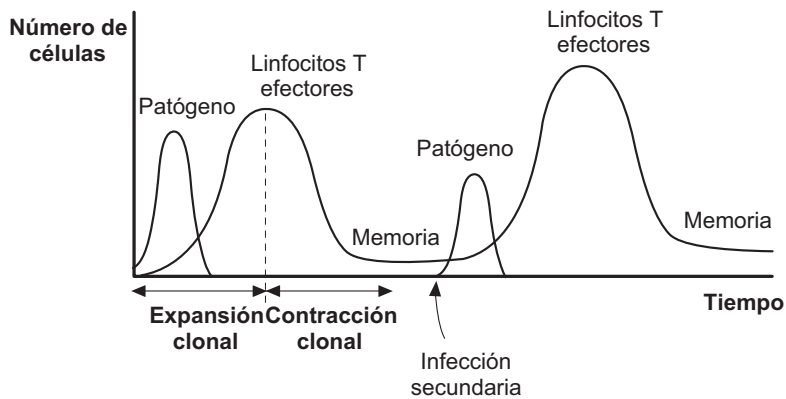
En la mayoría de los casos la expansión clonal conlleva la eliminación del patógeno causante de la activación. Una vez neutralizado el patógeno, entre el 90 y el 95 % de los linfocitos efectores mueren de forma controlada en la llamada **contracción clonal** [23–25], lo que evita la acumulación de células T que ya no son útiles para el organismo.

Las células que sobreviven tras la contracción se conocen como **linfocitos de memoria** y a lo largo de varias semanas pierden las funciones típicas de la activación y revierten a un estado similar al de las células naïve [26]. En el caso de una futura infección por el mismo microorganismo las células de memoria se activan y vuelven a pasar por las fases de expansión y contracción clonal, dando lugar a la denominada **respuesta secundaria** [27–29], que es



**Figura 2.4:** Las células T-killer inducen la muerte de las células que han resultado infectadas por el microorganismo patógeno.

generalmente más rápida y eficaz que la **respuesta primaria**, debida a las células naïve [30–33] (figura 2.5).



**Figura 2.5:** Comportamiento característico de la población de células T durante la respuesta inmunológica.

## 2.4. El programa intrínseco de las células T

La expansión y la contracción clonal observadas en la respuesta inmunitaria a infecciones agudas son características de la población de linfocitos, ya que son los clones y no las células los que se expanden y se contraen. Sin embargo, la expansión clonal se debe a la división celular de los linfocitos activados y la contracción clonal tiene lugar cuando la muerte de las células individuales predomina sobre la división.

En los ganglios linfáticos y en la sangre se mueven continuamente miles de



millones de linfocitos de clones diferentes, cada uno de ellos en fases distintas de activación. Los linfocitos T naïve que son reclutados en el curso de la respuesta inmunológica se activan, abandonan los ganglios linfáticos y migran hasta el centro de la infección. En el tejido infectado la situación es caótica: numerosas células del sistema inmunitario innato combaten al agente patógeno y las células sanas del tejido se mezclan con los restos de las células que han muerto como consecuencia de la infección. Dado que cada linfocito mide sólo entre 6 y 7 micras, incluso la escala del tejido en el que tiene lugar la infección es inabarcable para una célula individual. Sin embargo, cada célula debe decidir en cada instante si tiene que dividirse y continuar buscando signos de infección o morir para que el sistema recupere su estado de equilibrio, lo cual se manifiesta macroscópicamente en el comportamiento poblacional observado. Para explicar la dinámica poblacional (escala macroscópica) es necesario, por tanto, identificar los procesos celulares (escala microscópica) que subyacen a la elección entre la división celular y la apoptosis en los linfocitos T.

Los mecanismos celulares que explican el inicio de la expansión clonal son fáciles de identificar: la sinapsis inmunitaria alerta a los linfocitos naïve de la presencia de un agente infeccioso, que responden activándose y proliferando.

Sin embargo, las causas de la contracción clonal y la formación de memoria se desconocen en la actualidad. El retraso entre la desaparición del patógeno y el inicio de la contracción implica que la ausencia del antígeno no actúa como una señal que desencadena la contracción. Numerosas evidencias empíricas apuntan a que, de hecho, tanto la contracción clonal como la formación de memoria son fundamentalmente independientes del antígeno y se producen como consecuencia de un programa intrínseco que está implementado en las células T y que se pone en marcha después de la activación [34, 35].

En el capítulo siguiente vamos a revisar el conocimiento actual sobre el ciclo celular y la apoptosis en células T con el objetivo de formular un modelo del programa intrínseco de las células T. Según este modelo, el destino de cada linfocito se decide como resultado de un algoritmo molecular que involucra al TCR y otros receptores de membrana de las células T. Además, las decisiones individuales de cada célula de dividirse o morir dan lugar a un comportamiento colectivo coherente que puede explicarse como un resultado emergente del programa intrínseco, sin necesidad de invocar ningún mecanismo adicional de comunicación entre las células T.

## Capítulo 3

# Ser dos o no ser: la elección entre la división celular y la apoptosis en los linfocitos T CD8+. Hipótesis biológicas

*“Building a model is like eating an elephant: it’s hard to know where to begin. As with almost all problems, it is helpful to break a big problem into smaller, more manageable pieces.”*

James W. Haefner [36]

En los organismos unicelulares la división celular es función del tamaño de la célula, de modo que cuando los recursos disponibles son suficientes para crecer, la célula lo hace a la máxima velocidad posible y una vez alcanzado un tamaño crítico, se divide. La situación de las células que forman parte de un ser pluricelular es diferente: las células deben coordinar su proliferación y en ocasiones deben frenar su crecimiento o incluso morir para garantizar el funcionamiento global del sistema. Con este fin, todas las células del individuo son capaces de poner en marcha un programa de suicidio celular o apoptosis que se inicia con la contracción de la membrana y el colapso del citoesqueleto y acaba provocando la muerte de la célula. La alteración de la membrana celular actúa como una señal que provoca la fagocitosis de la célula apoptótica por parte de las células vecinas o por parte de los macrófagos y células dendríticas que patrullan los tejidos, que reciclan así los materiales de la célula tras su muerte. La muerte celular es el destino habitual de la mayoría de las células de los seres pluricelulares y se trata de un proceso activo, decidido por la célula

y que es fundamental durante el desarrollo embrionario y la renovación normal de los tejidos del cuerpo.

Para el buen funcionamiento del organismo debe mantenerse un equilibrio entre la proliferación y la muerte celular. Aunque cada año producimos el equivalente a nuestro peso en células, cada minuto millones de estas células mueren como consecuencia de la renovación normal de los tejidos. Cuando se rompe el equilibrio y se producen errores en las decisiones celulares de multiplicarse o morir las consecuencias son muy negativas para el organismo. Por ejemplo, la proliferación excesiva o la capacidad para escapar a la apoptosis por parte de una única célula son el origen de tumores que pueden acabar con la vida del individuo. Al contrario, muchas enfermedades neurodegenerativas e inmunodeficientes se deben a un aumento en la susceptibilidad de las células a la apoptosis.

En el caso de los linfocitos T, la expansión y la contracción clonal son comportamientos característicos del sistema, que emergen de la suma de las decisiones individuales de dividirse o morir. Durante la expansión clonal predomina la proliferación de las células activadas, mientras que la contracción clonal es la consecuencia de la muerte de la mayoría de las células efectoras. Pero, ¿cómo sabe cada linfocito cuándo debe dividirse y cuándo tiene que morir?

En este capítulo vamos a revisar el conocimiento actual sobre el ciclo y la muerte celular en linfocitos T CD8+<sup>1</sup> y formular explícitamente las hipótesis que permiten explicar cómo se decide el destino de los linfocitos y cómo el comportamiento de la población de linfocitos emerge a partir de las decisiones de cada célula individual.

### 3.1. El ciclo celular y la apoptosis en los linfocitos T CD8+

El ciclo celular se define como la secuencia de acontecimientos que llevan a una célula a dividirse en dos [37]. La división requiere la duplicación del genoma de la célula y de su maquinaria molecular interna y el reparto de estos elementos entre las dos células hijas. El desarrollo del ciclo celular se divide habitualmente en cuatro etapas: G1, S, G2 y M. Durante la fase G1 (*Gap 1* o *interfase 1*) la célula aumenta de tamaño y procesa la información sobre su estado metabólico interno y las señales que llegan desde el medio extracelular. La integración de esta información determina si la células se queda en G1, avanza a la siguiente fase del ciclo o pone en marcha el programa de suicidio celular [38–42].

Si la célula decide dividirse, abandona la fase G1 y entra en la fase S (*Síntesis*),

---

<sup>1</sup>En este trabajo nos centraremos en los linfocitos T CD8+ o citotóxicos. Para simplificar la notación, usaremos linfocito T y linfocito T CD8+ indistintamente.

durante la cual se produce la replicación del ADN. A continuación, en G2 (*Gap 2* o *interfase 2*) la célula sigue creciendo en tamaño y duplica la maquinaria celular y por último, en la fase M (*Mitosis*) la célula se divide para dar lugar a dos células hijas.

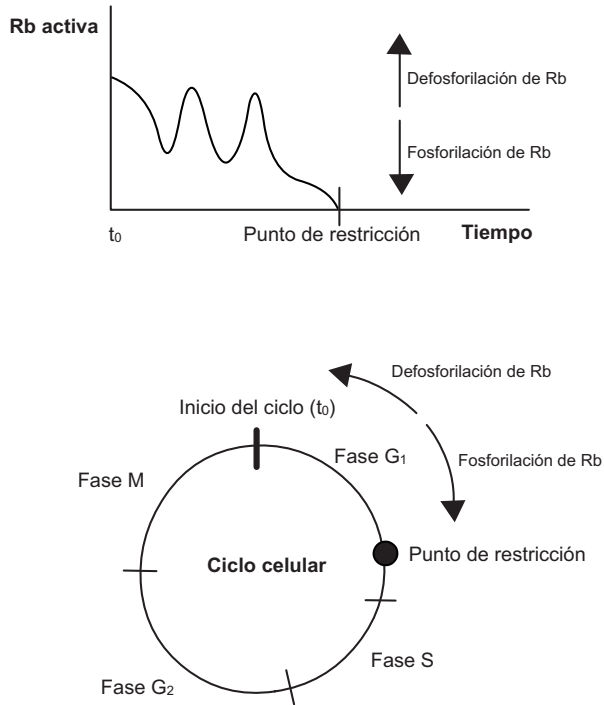
El momento de la fase G1 en el que la célula decide progresar hacia la fase S se denomina **Punto de Restricción** o **Punto R** y está determinado por una única molécula, la **proteína del Retinoblastoma** (Rb) [43–47], que puede encontrarse en dos estados: hipofosforilado y fosforilado. En su forma hipofosforilada, Rb está activa y se une a los factores de transcripción de la familia E2F, lo que paraliza la maquinaria de transcripción de la célula y bloquea la expresión de genes responsables del paso a la fase S. La fosforilación de Rb inactiva su función como represor transcripcional, con lo que se expresa E2F y la célula pasa a la fase S [48, 49].

Antes del Punto de Restricción la progresión en el ciclo es reversible [43, 45] y las señales extracelulares pueden provocar la fosforilación o desfosforilación de moléculas de Rb [30, 50] acercando o alejando a la célula del Punto de Restricción [42] (figura 3.1).

Sin embargo, el paso por el Punto de Restricción es irreversible, y una vez superado, las células ya no son sensibles al efecto de las señales externas y, si no se producen errores en la duplicación del material genético, la célula completa el ciclo celular y se divide. Durante el resto de fases del ciclo celular Rb queda inactivo y sólo vuelve a un estado hipofosforilado durante la mitosis [45, 51], lo que permite comenzar de nuevo el proceso en las células hijas.

Alternativamente la célula puede decidir no proseguir con el ciclo celular y poner en marcha el programa de muerte celular. Este programa no es único, sino que existen varias rutas diferentes que conducen a la muerte de la célula y que se desencadenan por estímulos diferentes. La detección de errores genéticos o de fallos en la maquinaria de replicación de la célula, o bien la insuficiencia de recursos metabólicos necesarios para proseguir con el ciclo activan la llamada **vía intrínseca de apoptosis**. A lo largo del ciclo hay tres puntos de control en los que la célula verifica que los recursos disponibles son suficientes para seguir con el ciclo (fase G1) y que no hay errores en la duplicación del ADN (fase G2) o en la integridad de los cromosomas (fase M). Cuando se detecta algún error la progresión en el ciclo se detiene. La célula intenta corregir el problema y sólo si la reparación no es posible, inicia la ruta intrínseca de apoptosis. Dado que muchas formas de cáncer tienen su origen en mutaciones o alteraciones en el ADN, la vía intrínseca proporciona un mecanismo de seguridad que evita que los errores en el material genético se transmitan a las células hijas, lo que reduce la posibilidad de aparición de tumores.

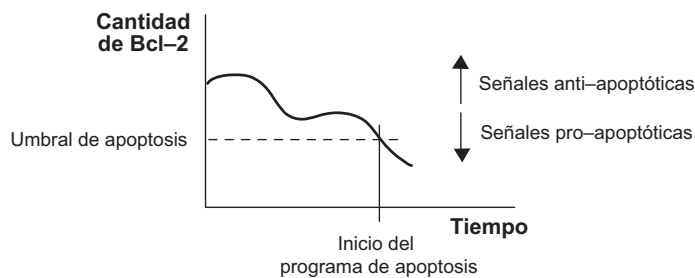
La muerte de los linfocitos T durante la respuesta inmunitaria tiene lugar a través de vías alternativas de apoptosis dependiendo de la naturaleza de la



**Figura 3.1:** Las señales que llegan desde el exterior provocan la fosforilación o defosforilación de Rb, lo que permite a la célula avanzar o retroceder en el ciclo celular. La decisión de dividirse está determinada por la desaparición de las moléculas de Rb activa del interior de la célula. Esta decisión es irreversible y desde este momento la célula ya no es susceptible de recibir la influencia de señales del medio extracelular.

infección: **AICD** (Activation Induced Cell Death) [52], y **ACAD** (Activated T Cell Autonomous Death) [53, 54]. ACAD, que está controlada por la familia de proteínas Bcl-2 (B-cell lymphoma 2 [55] es el principal mecanismo de muerte celular en infecciones agudas, mientras que AICD predomina en infecciones crónicas y es independiente de Bcl-2.

La familia Bcl-2 incluye unas 30 proteínas distintas con efectos antagónicos: mientras que algunas de estas proteínas induce la muerte de la célula, otras promueven su supervivencia [56, 57]. Aunque hay otras moléculas involucradas, el control de la ACAD en los linfocitos T depende fundamentalmente de las proteínas Bcl-2 (antiapoptótica) y Bim (proapoptótica) [58–61]. Se ha observado que la proporción entre los factores pro y antiapoptóticos determina la susceptibilidad de la célula al suicidio celular: cuando esta proporción alcanza un valor crítico, la célula inicia el programa de apoptosis [62–64]. Dado que la cantidad de Bim no cambia significativamente tras la activación del linfocito [57], el ratio de moléculas pro y antiapoptóticas depende fundamentalmente de la cantidad de Bcl-2 presente en la célula (figura 3.2).



**Figura 3.2:** La proporción de proteínas pro y antiapoptóticas determinan la decisión de la célula de poner en marcha el programa de muerte celular. Cuando las moléculas antiapoptóticas bajan de umbral la célula toma la decisión irreversible de morir.

La decisión de poner en marcha el programa de apoptosis también tiene lugar en la fase G1 [65, 66] y es irreversible: después de este momento la célula ya no puede ser rescatada por señales externas de supervivencia o de proliferación. La irreversibilidad de la decisión es una consecuencia del modo de acción de las proteínas de la familia Bcl-2. Los factores proapoptóticos intracelulares actúan perforando la membrana de las mitocondrias de la célula, mientras que las proteínas antiapoptóticas, por su parte, bloquean la función de las proapoptóticas y protegen así la integridad de las mitocondrias [67–70]. Cuando las proteínas proapoptóticas son más abundantes que las antiapoptóticas consiguen abrir poros en la membrana de las mitocondrias, lo que supone la liberación, entre otras proteínas, del **citocromo c**. Una vez liberado en el citosol de la célula, el citocromo c inicia un mecanismo de retroalimentación positiva, la **cascada de caspasas**, que conduce a la muerte celular. La muerte de la célula es por tanto

inevitable tras la liberación del citocromo c, independientemente de la llegada de señales de supervivencia del exterior celular.

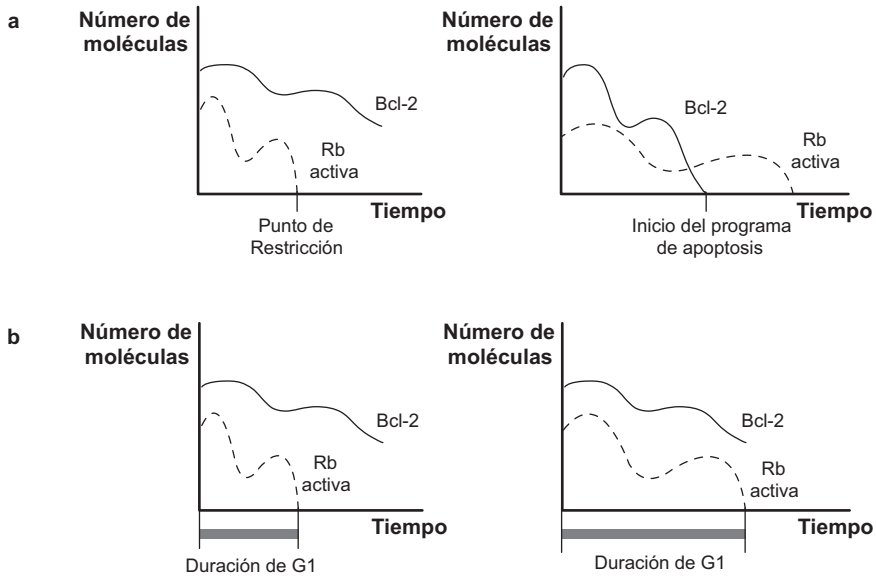
Recapitulando, numerosas evidencias indican que el destino de la célula se decide en la fase G1 del ciclo. Aunque hay muchas moléculas involucradas en el control del ciclo celular y la apoptosis, y muchas de ellas participan simultáneamente en el control de ambos procesos [71–73], dos proteínas parecen ser decisivas en la determinación del destino celular. Por una parte, cuando la número de moléculas de Rb activas disminuye hasta un valor crítico, la célula abandona G1 para iniciar la división celular y por otra, cuando la cantidad de moléculas de Bcl-2 alcanza un umbral, la célula abandona G1 para poner en marcha los mecanismos que llevan a la muerte celular. Además, tanto el ciclo celular como la apoptosis son reversibles hasta que se llega a un punto de no retorno, en el que la división o la muerte de la célula son inevitables. A partir de estas evidencias empíricas postulamos que ambos procesos deberían considerarse como mecanismos complementarios de un programa celular cuyo objetivo es la decisión del destino del linfocito: si asumimos que los inhibidores de ciclo y de apoptosis operan simultáneamente en el interior de la célula, entonces la primera de estas moléculas en alcanzar un umbral crítico determina el destino de la célula.

### 3.2. Hipótesis 1. Dos moléculas controlan el destino celular

*Desde el nacimiento de la célula dos proteínas inhiben la progresión del ciclo celular y el programa de muerte celular respectivamente. El primer inhibidor en alcanzar un umbral crítico determina el destino de la célula de manera irreversible (figura 3.3.a).*

La Hipótesis 1 implica que la dinámica de los inhibidores no determina únicamente si la célula se divide o muere sino también cuándo lo hace (figura 3.3.b). Se ha observado que, de hecho, la duración del ciclo en los linfocitos T es muy heterogénea [74, 75] y que la heterogeneidad se debe a la variabilidad en la duración de la fase G1 [47, 76] ya que el resto de fases del ciclo celular y la ejecución del programa de apoptosis tienen una duración constante [41, 77]. Además la duración de la vida de los linfocitos no está determinada genéticamente, ni se transmite a las células hijas, ya que no hay ninguna correlación entre la duración del ciclo de una célula y los de sus células hijas, incluso en poblaciones de clones [78].

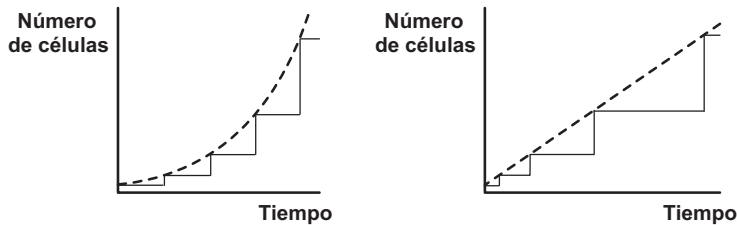
En la figura 3.4 se muestra la evolución en el tiempo de dos poblaciones hipotéticas de células. En la primera población la duración del ciclo es igual para todas las células, independientemente del número de divisiones celulares, lo que da lugar a un crecimiento “exponencial”. En cambio, en la segunda



**Figura 3.3:** a) Hipótesis 1: El destino de la célula depende de dos inhibidores, uno que bloquea la progresión del ciclo celular y otro que bloquea el programa de muerte celular. El destino de la célula depende de cuál de la proteínas inhibidoras alcanza antes un umbral crítico. Para simplificar la discusión supondremos, sin pérdida de generalidad, que el umbral crítico es cero para ambos inhibidores. a) En la figura de la izquierda se representa la evolución de los inhibidores en un linfocito. El primer inhibidor que desaparece es Rb, lo que determina la decisión de la célula de continuar con el ciclo celular. En la figura de la derecha es Bcl-2 el primer inhibidor que alcanza el umbral crítico, lo que determina de manera irreversible la muerte celular, incluso si el inhibidor Rb desaparece posteriormente. b) En ambos casos el inhibidor de ciclo celular es el primero en agotarse, lo que hace que el linfocito se divida. Sin embargo, el tiempo que tarda el inhibidor en desaparecer es diferente, lo que se traduce en distintas duraciones de la vida celular.



población la duración del ciclo aumenta en cada generación, originando una dinámica “lineal”.



**Figura 3.4:** La duración de la vida de cada célula determina la dinámica poblacional observada. Si la duración del ciclo es idéntica en todas las células, la población presenta un crecimiento exponencial. Al contrario, si las células tardan más en completar el ciclo tras cada ronda de división celular, la población crece linealmente.

La duración de la vida de cada célula determina, por tanto la dinámica de la población. En consecuencia, un modelo que pretenda vincular la dinámica de la población con el comportamiento celular debe tener en cuenta, no sólo la división o la muerte celular, sino también los mecanismos que deciden la duración de la vida de las células. Sin embargo, en los modelos matemáticos del ciclo celular se considera habitualmente la duración del ciclo como un parámetro [79–81] o bien se ajusta a una distribución probabilística [82, 83]. La Hipótesis 1 propone un mecanismo explícito que vincula la duración de la vida de la célula con los procesos involucrados en la elección entre el ciclo y la muerte celular.

Nuestra primera hipótesis es que dos moléculas que se encuentran en el interior celular, una que inhibe el ciclo celular y otra que inhibe la apoptosis, permiten a la célula decidir cuándo dividirse y cuándo morir. A la vista de esta hipótesis surge la cuestión de encontrar los mecanismos que determinan la dinámica de estas proteínas.

### 3.3. Los receptores de membrana y los inhibidores del ciclo celular y la apoptosis de los linfocitos T

Como hemos visto en el apartado anterior, todas las células del organismo son capaces, durante la primera fase del ciclo celular, de percibir información sobre el medio externo e integrar esta información para tomar la decisión de dividirse o suicidarse. En el caso de los linfocitos T, y del sistema inmunológico en general, la información está codificada en forma de proteínas que reciben el nombre genérico de **citoquinas**. La interacción entre la citoquina y su receptor

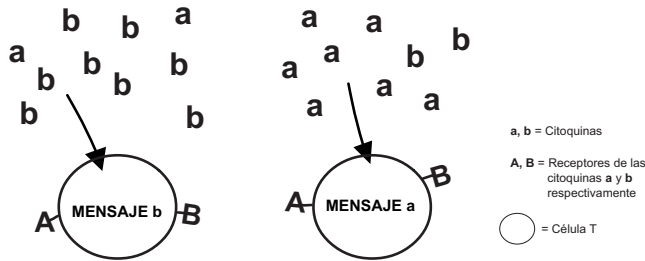
específico, denominada **señal**, pone en marcha una serie de mecanismos intracelulares que dan origen a proteínas conocidas como **segundos mensajeros**. Los segundos mensajeros se unen a otras proteínas en el interior de la célula modificando su función o bien migran al núcleo celular para inducir la expresión de genes concretos [84–86]. En ocasiones, la citoquina no se encuentra en forma soluble en el medio extracelular, sino que permanece unida a la membrana, y allí interacciona con receptores de la misma célula o de otras células. La señal continúa hasta que el receptor es internalizado [76, 87] y a continuación el receptor se recicla y se envía de nuevo a la superficie, donde puede volver a interaccionar con otra citoquina. En otros casos tanto el receptor como la citoquina se reciclan y son reenviados juntos a la membrana celular, lo que permite que la señal dure más tiempo incluso en ausencia de nuevas moléculas de citoquina, como ocurre por ejemplo con la interleuquina-15 (IL-15) [88].

En general resulta complicado vincular explícitamente una citoquina con una función concreta, ya que es habitual que las citoquinas activen simultáneamente varias rutas intracelulares independientes [89–91], que estas rutas sean compartidas por varias citoquinas [92] o incluso que una misma citoquina tenga efectos distintos en tipos celulares diferentes [93–95]. Sin embargo, se ha observado que las citoquinas controlan prácticamente todos los aspectos de la vida de las células T [96–98]. Pueden modificar su comportamiento, su capacidad para migrar de unos tejidos a otros o el patrón de receptores que expresan en su membrana [99, 100]. En relación con el presente trabajo, las citoquinas participan en la transición de la fase G1 a la fase S del ciclo celular, así como en el programa de apoptosis [101–103].

De acuerdo con lo que hemos visto en el apartado 3.1, la influencia de las señales citoquina–receptor sobre el destino de la célula se ejerce modificando la cantidad de proteínas inhibitoras del ciclo y de la muerte celular durante la fase G1 del ciclo [104, 105]. Una vez superada esta fase, bien porque la célula comienza el proceso de división o bien porque inicia la apoptosis, el destino de la célula es irreversible y la célula deja de ser susceptible a la influencia de las citoquinas [76, 106].

Algunas citoquinas, como la interleuquina-2 (IL-2), la IL-15, la IL-4, la IL-21 o los interferones (INF) [107, 108] actúan como “señales de proliferación”, fornsforilando moléculas de Rb y moviendo al linfocito hacia el Punto de Restricción. Otras se comportan como “señales de supervivencia” (IL-7 [109, 110], IL-6 [55] o IL-15 [90, 111]) o “señales de muerte” (Fas, TNFR o TRAIL [112, 113]) dependiendo de su efecto, positivo o negativo, sobre la cantidad de moléculas de Bcl-2. Por su parte, el TCR también podría participar en el control de los inhibidores de ciclo y apoptosis [161].

Dado que cada citoquina interacciona sólo con un tipo de receptor específico, para que un linfocito pueda ser sensible a la influencia de una citoquina deben darse dos condiciones simultáneamente: las moléculas de citoquina deben



**Figura 3.5:** Según el modelo de control poblacional del destino individual es la concentración de los distintos tipos de citoquinas lo que determina el destino de los linfocitos. Así, el predominio de las señales de proliferación en las proximidades de la célula provoca la división celular, mientras que la apoptosis es la consecuencia del predominio de señales de muerte

estar disponibles en el entorno de la célula y el receptor correspondiente debe estar presente en su membrana. La cantidad de señales citoquina-receptor que recibe un linfocito T depende, por tanto, de la concentración de la citoquina en el medio extracelular y del número de receptores específicos presentes en la membrana de la célula. Este hecho sugiere dos posibles modelos para explicar el control por parte de las citoquinas del destino celular: a través de la concentración de citoquinas (que llamaremos **modelo de control poblacional**) y a través del número de receptores (que denominaremos **modelo de control individual**).

### 3.3.1. Control poblacional del destino celular

Dada la naturaleza distribuida del sistema inmunitario, la composición de citoquinas durante la respuesta inmunológica no está controlada por ningún órgano central, sino que resulta de la cantidad de citoquinas que secreta cada célula dependiendo de su percepción de la infección. Por tanto, bajo la hipótesis de que el destino celular depende de la concentración de citoquinas, es la población en su conjunto la que controla el destino de cada célula decidiendo en cada momento la disponibilidad de citoquinas, de ahí el nombre de modelo de control poblacional. Desde este punto de vista, el sistema inmunitario es una red de individuos que se comunican intercambiando información mediante las citoquinas. Distintas combinaciones de citoquinas representan mensajes diferentes que la célula es capaz de interpretar para decidir su destino (figura 3.5).

La inflamación de los tejidos en el curso de la infección es un claro ejemplo de proceso sometido a un control poblacional durante la respuesta inmunológica. Las células del sistema inmunitario innato reaccionan al contacto con un agen-

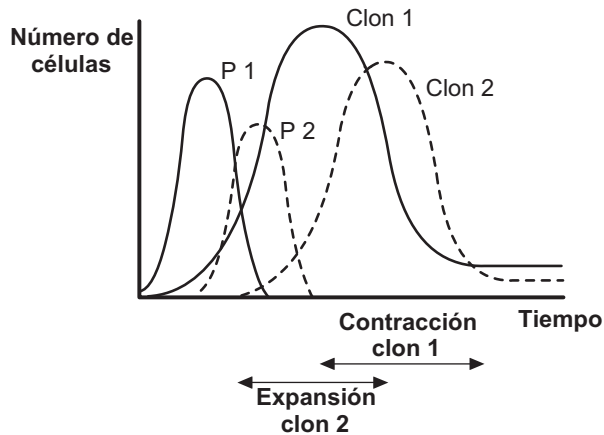
te patógeno emitiendo citoquinas específicas que crean un mensaje inequívoco de peligro. La percepción de estas citoquinas por parte de otra célula del sistema innato es suficiente para causar su activación e inducir la secreción de más citoquinas, lo que contribuye a amplificar la señal de alerta. Por su parte, las células endoteliales reaccionan ante estas mismas citoquinas aumentando la permeabilidad de los vasos sanguíneos próximos, lo que da lugar al reclutamiento de proteínas y nuevas células inmunitarias desde la sangre hacia el foco de la infección.

Sin embargo el control poblacional plantea problemas a la hora de explicar cómo se coordina el comportamiento de los linfocitos T de clones distintos durante la contracción clonal. Para explicar la contracción clonal como un proceso bajo control poblacional es necesario asumir la existencia de una combinación de citoquinas capaz de causar la muerte de los linfocitos T activados una vez que no son necesarios.

Una primera dificultad para el modelo de control poblacional es explicar el origen de este hipotético mensaje de “fin de la infección”. A medida que progresa la infección, el patógeno, las citoquinas y los linfocitos T se reparten de manera heterogénea en el tejido infectado. En estas condiciones, la ausencia de contacto directo con el microorganismo o con citoquinas de alerta no bastan para que una célula inmunitaria pueda asumir que el patógeno ha sido neutralizado. Dado que ninguna célula puede saber que se ha acabado la infección, es difícil de explicar cómo podría el sistema inmunitario crear un mensaje de final de la infección capaz de poner en marcha la contracción de los clones activados.

Por otra parte, dado que los linfocitos de clones distintos sólo se diferencian en el TCR, este hipotético mensaje poblacional provocaría la apoptosis de todos los linfocitos activados simultáneamente. Sin embargo es fácil imaginar situaciones que ponen de manifiesto la necesidad de que el comportamiento de clones distintos de linfocitos T esté controlado de manera independiente. Por ejemplo la llegada de un segundo patógeno durante una respuesta inmunológica podría dar lugar a la coexistencia de clones de linfocitos en expansión y en contracción. En este caso es evidente que no debería producirse la contracción simultánea de todos los linfocitos activados (figura 3.6).

El problema de la interferencia entre clones de linfocitos T que plantea el modelo poblacional podría evitarse si el sistema inmunitario fuese capaz de crear mensajes específicos para cada clon. Sin embargo, la enorme variabilidad potencial de los clones de células T, y el hecho de que la estructura de los TCR presentes en los linfocitos de cada individuo se generan al azar hacen muy difícil que, controlando exclusivamente la concentración de citoquinas el sistema pueda generar un mensaje poblacional dirigido a los linfocitos de un clon concreto. Los  $10^5$  clones presentes en un individuo son una muestra aleatoria de  $10^{18}$  clones potencialmente posibles. Dado que el número de citoquinas es mucho menor, estos mensajes hipotéticos dirigidos a clones concretos deberían

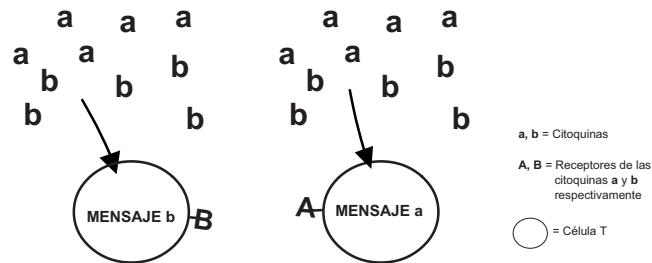


**Figura 3.6:** La presencia de dos patógenos simultáneamente puede implicar la coexistencia de linfocitos en distintas fases de expansión y contracción clonal. Los mecanismos que ponen en marcha la contracción deben ser específicos para cada clon para evitar problemas de interferencias entre clones.

construirse utilizando distintas combinaciones de citoquinas. Por ello, los mensajes utilizados para controlar simultáneamente dos clones distintos no podrían ser independientes, sino que se mezclarían dando lugar a un tercer mensaje alternativo.

Por otra parte, el modelo poblacional tampoco explica por qué dentro de un mismo clon, algunas células efectoras mueren en la contracción clonal y otras sobreviven como células de memoria. Además de un problema de interferencia entre clones, el modelo poblacional plantea, por tanto, un problema de interferencia entre los linfocitos de un mismo clon. ¿Cómo podrían las señales poblacionales informar simultáneamente a algunas células de que deben morir en la contracción clonal y a otras de que deben sobrevivir para constituir la memoria?.

En el curso de la infección los linfocitos de clones diferentes pueden estar próximos en el espacio y por tanto compartir el mismo ambiente de citoquinas. Para conseguir que el comportamiento de cada clon esté controlado de manera independiente es necesario que linfocitos distintos reaccionen de manera diferente ante el mismo contexto de citoquinas. Por tanto la concentración de citoquinas no basta para determinar las decisiones de dividirse o morir de los linfocitos durante las distintas fases de la respuesta inmunológica.



**Figura 3.7:** De acuerdo con el modelo de control individual es cada linfocito el que modula el efecto de las citocinas en función del número de receptores que expresa. Así, una misma concentración de citocinas en el medio extracelular puede traducirse en mensajes diferentes dependiendo de la proporción de receptores presentes en la membrana de la célula.

### 3.3.2. Control individual del destino celular

Según el modelo de control individual cada célula modula el efecto de las citocinas sobre el ciclo celular y la apoptosis decidiendo la cantidad de receptores que expresa en su membrana, y por tanto el número de señales citocina-receptor que recibe en cada momento (figura 3.7).

La acción de IL-2, citocina que promueve la proliferación de los linfocitos activados y de IL-7, principal factor de supervivencia de los linfocitos naïve y memoria, parece estar sometida a un control individual.

Para activarse, cada célula T naïve necesita establecer una sinapsis inmunológica con una célula dendrítica portadora de un antígeno reconocible por su TCR (ver apartado 2.2). Los linfocitos recién activados reaccionan secretando IL-2 y aumentando la expresión del receptor específico para esta citocina (IL-2R). La secreción de IL-2 por parte de un linfocito activado no induce la activación ni la proliferación de otros linfocitos T CD8+ capaces de responder al patógeno ya que sólo las células que expresan IL-2R son sensibles a la presencia de la citocina y recíprocamente, los linfocitos efectores que expresan IL-2R son los mismos que secretan la citocina. Por tanto, interpretar la producción de IL-2 como un mecanismo que permite a unos linfocitos T alertar a otros sobre la infección conduce a la paradoja de que las células que podrían percibir el mensaje ya están respondiendo a la infección, ya que sólo los linfocitos activados expresan IL-2R.

Alternativamente, la producción de IL-2 por parte de los linfocitos activados puede interpretarse, no como una señal para informar de la infección, sino como un medio de saturar de citocinas el entorno de la célula asegurando que cada receptor expresado en la membrana da lugar a una señal. Esto explicaría por qué las células con más receptores reciben más señales y progresan más rápida-

mente en el ciclo celular [78] De hecho, la acción de la IL-2 es fundamentalmente autocrina, es decir, su efecto se ejerce sobre la misma célula que la secreta y además el número de señales, y por tanto la progresión en el ciclo está limitada por la cantidad de IL-2R y no por la concentración de la citoquina [27].

Por otra parte, el efecto de IL-7 durante la contracción clonal también debe explicarse como parte de un mecanismo de control individual. IL-7 está producida por células no inmunitarias y su concentración permanece constante durante la expansión y la contracción clonal [114]. De hecho se ha observado que un aumento de IL-7 en condiciones experimentales no evita la contracción clonal [115]. Esto se debe a que, mientras que las células T naïve expresan una gran cantidad de receptores para IL-7 (IL-7R) en su membrana, la activación induce una pérdida progresiva de IL-7R en la membrana de los linfocitos T activados [116, 117]. Sólo las células que sobreviven como memoria mantienen niveles altos de IL-7R durante la contracción clonal [118-120]. Por tanto, la supervivencia de algunas células efectoras tras la contracción no depende de la concentración de citoquinas de supervivencia sino de la decisión individual de cada célula de expresar o no los receptores para la citoquina de supervivencias.

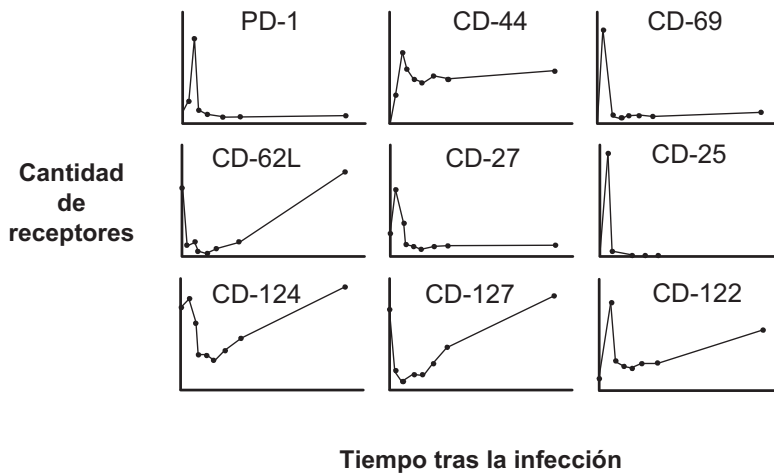
Aunque la comunicación celular es evidentemente relevante en muchas etapas de la respuesta inmunitaria, postulamos que tanto IL-2 como IL-7 son de hecho el modelo de funcionamiento de las citoquinas vinculadas con el control de Bcl-2 y Rb en las células T durante la expansión y la contracción clonal y la formación de memoria inmunitaria.

### 3.4. Hipótesis 2. Los receptores de membrana determinan el destino de los linfocitos T

*Las citoquinas (solubles y no solubles) se encuentran en concentraciones localmente saturadas (como IL-2) o bien en equilibrio (como IL-7) durante la expansión y la contracción clonal. De este modo las células T pueden modular el efecto de una citoquina concreta decidiendo el número de receptores específicos presentes en su membrana en cada momento.*

Dado que cada célula decide qué receptores expresa en cada momento, el comportamiento de cada linfocito no está directamente determinado por la concentración de citoquinas en el medio extracelular. De este modo se evita la interferencia entre células de clones distintos y entre células naïve y memoria que se produciría bajo el control poblacional.

Sin embargo, aunque el control individual evita el problema de la interferencia entre clones durante la expansión y la contracción clonal de las células T, plantea la cuestión de cómo deciden las células cuántos receptores tiene que expresar. El número de receptores presentes en la membrana celular es, de hecho, muy



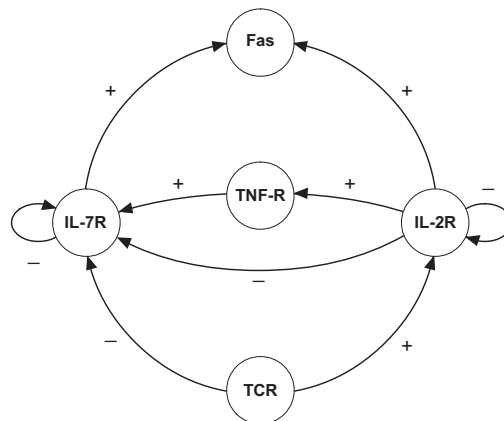
**Figura 3.8:** Evolución de algunos receptores presentes en la membrana de los linfocitos T durante la respuesta inmunológica. (Fuente: referencia [123])

variable en los linfocitos T activados durante la expansión y la contracción clonal [121–123] (figura 3.8).

La expresión de receptores de proliferación IL-2R es una consecuencia directa de la activación de la célula naïve. La señal del TCR provoca la activación de la célula y al mismo tiempo induce la secreción de IL-2 y la síntesis de su receptor IL-2R [50], además de provocar una disminución en la expresión de IL-7R [124–127]. Igual que ocurre con la señal del TCR, las señales citoquina-receptor activan simultáneamente rutas metabólicas distintas en el interior de la célula que acaban influyendo, no sólo sobre las moléculas inhibidoras de ciclo y apoptosis, sino también sobre otras funciones de la célula, incluida la expresión de nuevos receptores de membrana. En los linfocitos T CD8+ existe una compleja relación de feedback entre los receptores de membrana, de modo que el número de receptores de cada citoquina determina y a su vez está determinada por la cantidad de otros receptores de citoquinas o por la cantidad de señales antigénicas percibidas por el TCR (figura 3.9).

El feedback entre receptores depende evidentemente de las citoquinas, ya que para producir una señal, un receptor debe interactuar con una molécula de citoquina. Sin embargo, bajo la hipótesis de que las citoquinas están en una concentración local de saturación (como IL-2) o en equilibrio (como IL-7) implica que el número de señales es proporcional al número de receptores.





**Figura 3.9:** Esquema de las relaciones de feedback entre los receptores de membrana en los linfocitos T descritas en la literatura (ver, por ejemplo [50, 101, 109, 124–139]).

### 3.5. Hipótesis 3. El efecto de los receptores de membrana es aditivo

*En el curso de una infección aguda los receptores de membrana son independientes, es decir, cada receptor tiene un “efecto” característico que no depende de la presencia simultánea de otros receptores en la membrana de la célula.*

Según la Hipótesis 2 los receptores de membrana determinan la evolución de los inhibidores de ciclo y apoptosis y, mediante un mecanismo de feedback, la expresión de otros receptores de membrana. De acuerdo con esta premisa, el patrón de receptores en la superficie de un linfocito en un momento determinado puede considerarse como el input de un algoritmo celular que produce como output un cambio en el número de moléculas inhibitoras y una nueva combinación de receptores de membrana. La célula debe interpretar la composición actual de su membrana para de alguna manera “recalcular” la cantidad de inhibidores y la nueva configuración de receptores.

En el caso de algunos receptores, la señal que recibe la célula depende del contexto en el que se encuentra el receptor en la membrana celular. Por ejemplo el receptor de muerte Fas puede activar rutas alternativas de apoptosis en linfocitos T en el curso de infecciones crónicas y agudas [140–142]. Las diferencias en el comportamiento de Fas se deben a la configuración de la membrana celular en ambos casos. Durante una infección aguda los receptores Fas se encuentran aislados en la membrana celular y actúan a través de la ruta de Bcl-2 [143]. Las infecciones crónicas por otra parte causan la aparición de estructuras denominadas **balsas de lípidos** en la membrana celular [144] en las que se

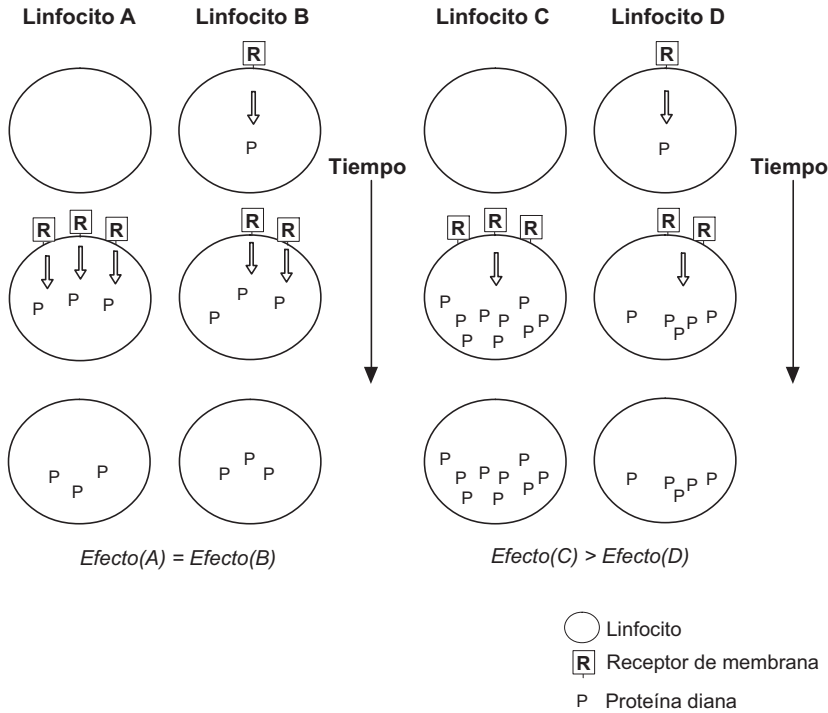
agrupan los receptores Fas. En esta situación Fas pone en marcha la muerte celular por activación o **AICD** (Activation Induced Cell Death) [52, 141], que es independiente de Bcl-2 [143].

El ejemplo de Fas muestra que los receptores pueden actuar tanto de forma independiente como de forma colectiva dependiendo de la naturaleza de la infección. La acción colectiva o individual de los receptores tiene distintas consecuencias sobre la naturaleza del algoritmo celular introducido más arriba. El funcionamiento colectivo implica que cada receptor tiene un efecto distinto dependiendo de si se expresa o no de manera simultánea con otros receptores. La combinación de receptores es una unidad y como tal produce un output característico que depende de la interacción entre los receptores. Al contrario, si el efecto es individual, el output colectivo es la suma de los outputs parciales correspondientes a cada receptor. En este caso la coincidencia temporal de los receptores en la membrana es irrelevante, ya que cada receptor actúa independientemente de los demás (figura 3.10) dando lugar a un efecto acumulativo.

Se ha observado que el efecto de IL-2R tras la activación de los linfocitos naïve es, en efecto, aditivo. Las células T son capaces de “contar” el número de señales IL-2/IL-R durante la fase G1 del ciclo celular [76, 78], de modo que cuando este número alcanza un umbral, la célula se divide. Bajo la Hipótesis 1, este hecho se explica fácilmente asumiendo que cada señal IL-2/IL-2R desactivan la misma cantidad de moléculas de Rb, independientemente de si la señal coincide en el tiempo con otras señales. De este modo el umbral crítico de Rb activo se alcanza tras un número fijo de interacciones IL-2/IL-2R.

Asumiremos que, igual que Fas e IL-2R, los receptores de membrana actúan de manera independiente en el curso de las infecciones agudas. Es decir, cada receptor tiene un efecto característico, que puede definirse cuantitativamente como un cambio en el número de proteínas inhibidoras y de receptores de membrana. Este efecto es una propiedad del receptor y no depende de la presencia simultánea de otros receptores en la membrana. El algoritmo celular que vincula el patrón de receptores en la membrana con la evolución de los inhibidores y de los propios receptores presenta, bajo esta hipótesis, una relación lineal entre el input y el output. Esta relación lineal ha sido observada en receptores bacterianos y en células eucariotas [145–148], y permite aumentar la fidelidad de la transmisión de información al reducir la amplificación de ruido estocástico durante la transmisión de la señal [145]. Además, la linealidad garantiza que configuraciones similares de receptores en la membrana se traducen en decisiones celulares parecidas, no sólo en cuanto a la decisión de dividirse o morir sino que también en el momento en que la célula se divide o muere.

En este sentido, el algoritmo que determina el destino celular no sólo debería ser poco sensible a pequeñas variaciones en el input, sino que también debería estar protegido de posibles manipulaciones por parte de los agentes infecciosos.



**Figura 3.10:** En los Linfocitos A y B los receptores son independientes y causan la síntesis de 1 molécula de la proteína P por cada receptor. En este caso el efecto de los receptores es el mismo si aparecen simultáneamente o de manera secuencial. En los linfocitos C y D los receptores no son independientes, sino que su efecto depende de la presencia simultánea de otros receptores. Así, un receptor aislado produce una molécula de la proteína P, dos receptores actuando a la vez dan lugar a 4 moléculas de P y tres receptores a 9 moléculas de P. En este caso el efecto no se acumula, sino que depende del patrón temporal de aparición de los receptores, de modo que, aunque el número total de receptores expresados en los linfocitos C y D es el mismo, el efecto total es diferente.

Existen abundantes ejemplos de patógenos que han desarrollado mecanismos capaces de modificar el funcionamiento celular en su propio beneficio. Algunos virus sintetizan proteínas antiapoptóticas que retrasan la muerte celular o proteínas capaces de detener la progresión del ciclo, con el fin de completar su propio proceso de multiplicación [149–153].

Además, el mecanismo de feedback descrito antes debería evitar decisiones equivocadas provocadas por posibles fallos en el funcionamiento de alguno de sus elementos. Por ejemplo, una mutación en los receptores de muerte podría bloquear la ruta de la apoptosis, sesgando así la elección del destino de la célula al restringir la posibilidad de la muerte celular. En esta situación, la acumulación de señales de proliferación podría llegar a inducir la división de un linfocito que, en condiciones normales, habría decidido suicidarse.

Sin embargo, se ha observado que esto no ocurre en los linfocitos T, ya que la ausencia de un determinado receptor de muerte o de proteínas involucradas en el suicidio celular provocan, no sólo que las células no pongan en marcha el programa de apoptosis, sino que tampoco sean capaces de progresar en el ciclo celular [154–158]. Recíprocamente, mutaciones que afectan a los receptores de proliferación o a proteínas que participan en el desarrollo del ciclo celular no sólo se traducen en la ausencia de división celular, sino que van acompañadas también de problemas en la apoptosis [159–161].

Una explicación posible de esta aparente paradoja, dentro de la teoría del programa intrínseco, es la existencia de un mecanismo de control que evita que la célula tome una decisión errónea en caso de manipulación por un patógeno o por errores genéticos en el algoritmo de feedback entre receptores. La hipótesis de un mecanismo de control adicional explicaría el papel otras moléculas (distintas de Rb y Bcl-2), que son capaces de bloquear las rutas del ciclo celular y la apoptosis en los linfocitos T [162–165].

La existencia de otras proteínas inhibidoras contradice aparentemente la Hipótesis 1. En efecto, la presencia de un segundo inhibidor de apoptosis evitaría la puesta en marcha del programa de muerte celular incluso si Bcl-2 alcanzase su umbral crítico. De manera similar, inhibidores alternativos podrían impedir la progresión en el ciclo celular, incluso tras la total desactivación de Rb.

Esta aparente contradicción desaparece si asumimos que estos inhibidores participan en el control del algoritmo de decisión del destino celular. Para ilustrar cómo podría funcionar este dispositivo de control, vamos a ver cómo un defecto en los receptores de muerte podría provocar el bloqueo del ciclo celular. De acuerdo con las hipótesis anteriores, la duración de la vida celular, así como el destino del linfocito, están determinados en circunstancias normales por señales de los receptores de membrana que se acumulan y controlan las cantidades de Rb activa y de Bcl-2. Supongamos ahora que los receptores de muerte tienen dos efectos simultáneamente: además de promover la apoptosis,

reduciendo la cantidad de Bcl-2 disponible, desactivan también un inhibidor de ciclo (que denominaremos C), distinto de Rb. Para que Rb controle la decisión de la célula de dividirse, como afirmamos en la Hipótesis 1, basta que el tiempo necesario para que el receptor de muerte inactive la proteína C sea menor que el tiempo que tardan los receptores de proliferación en desactivar Rb. En este caso, la célula se dividirá una vez alcanzado el Punto de Restricción, es decir, una vez que se ha desactivado completamente Rb. Sin embargo, una mutación que afectase a la expresión de los receptores de muerte daría lugar a un escenario diferente. En este caso, la falta de receptores de muerte impediría la eliminación del inhibidor C. Así, incluso si los receptores de proliferación provocasen la desactivación total de Rb, llevando a la célula al Punto de Restricción, el inhibidor C bloquearía la progresión del ciclo (figura 3.11). De manera análoga, un segundo inhibidor de apoptosis, distinto de Bcl-2 permitiría al sistema detectar la ausencia de señales de proliferación.

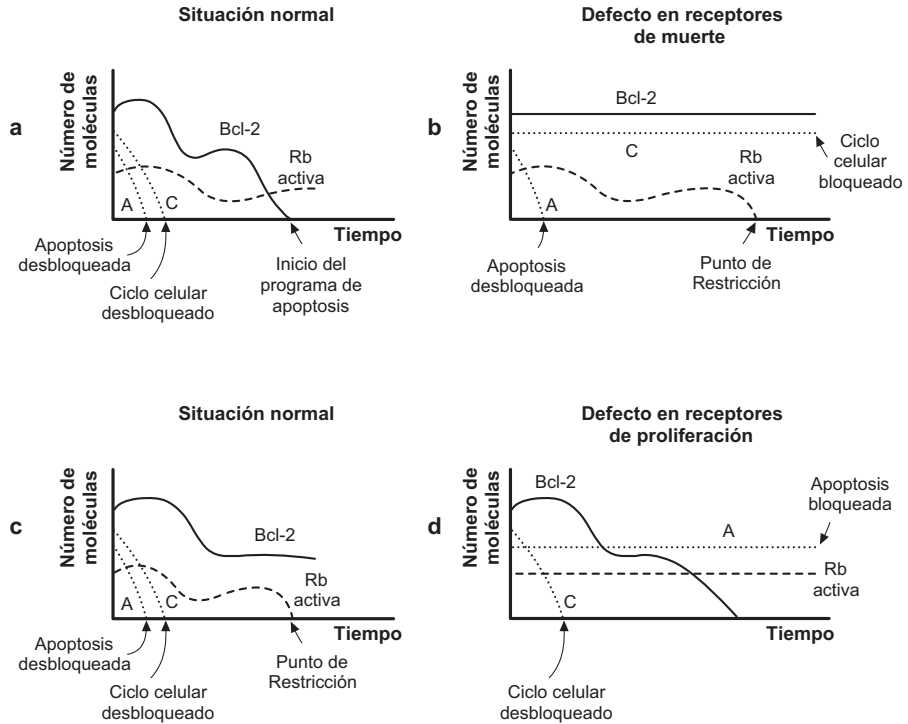
Proponemos por tanto, que el programa intrínseco de las células T incluye dos mecanismos simultáneos que requieren de la interacción entre los receptores de membrana y las proteínas inhibidoras, uno lento (en el que participan Rb y Bcl-2), que funciona como un cronómetro celular y determina la duración de la vida de la célula y determina la elección entre la división y la muerte, y otro, más rápido, que proporciona un dispositivo de control del anterior. De este modo, el algoritmo determina la elección adecuada de la célula, entre la división y la muerte, y asegura que esta decisión no está distorsionada por errores en la maquinaria celular.

### 3.6. Hipótesis 4. Las células T naïve se dividen asimétricamente dando lugar a dos células hijas que difieren en el mecanismo de feedback entre receptores de membrana

*La sinapsis inmunológica provoca la activación de las células T naïve CD8+ y su división asimétrica. Las células hijas difieren en la estructura del mecanismo de feedback entre los receptores de membrana.*

En la última etapa de la respuesta inmunitaria a una infección aguda coexisten dos tipos de linfocitos T que se diferencian en la sensibilidad a la muerte celular. Por una parte hay linfocitos sensibles a la apoptosis, que mueren durante la contracción clonal, y por otra, linfocitos resistentes a la apoptosis, que sobreviven en forma de linfocitos de memoria.

Se ha propuesto que la diferencia en sensibilidad a la apoptosis durante la contracción clonal podría resultar de diferencias en estímulos externos, como la



**Figura 3.11:** Mecanismo de seguridad del algoritmo de decisión del destino celular en los linfocitos T. Inhibidores de ciclo y apoptosis, distintos de Rb y Bcl-2 proporcionan robustez al algoritmo, asegurando que las decisiones que resultan del mismo no están afectadas por defectos en los receptores de membrana. a) En una situación normal los inhibidores alternativos (A y C) son desactivados rápidamente, mientras Rb y Bcl-2 controlan la duración de la vida celular y la elección entre la división y la muerte celular. La desaparición de Bcl-2 implica que la célula va a poner en marcha el programa de apoptosis. b) Un defecto en los receptores de muerte cambiaría la situación. Por una parte, el inhibidor Bcl-2 no desaparece. Sin embargo, el defecto en los receptores de muerte hace que el inhibidor C tampoco se desactive. Por tanto, aunque la célula alcanza el Punto de Restricción no se divide, ya que el ciclo celular está bloqueado por el inhibidor C. En c) y d) se muestra el mecanismo análogo que controla el buen funcionamiento de los receptores de proliferación.

cantidad de señales de proliferación [166], la fuerza de la estimulación antigénica [167–170] o la calidad de la estimulación [26], recibidos por los linfocitos durante la expansión y la contracción clonal.

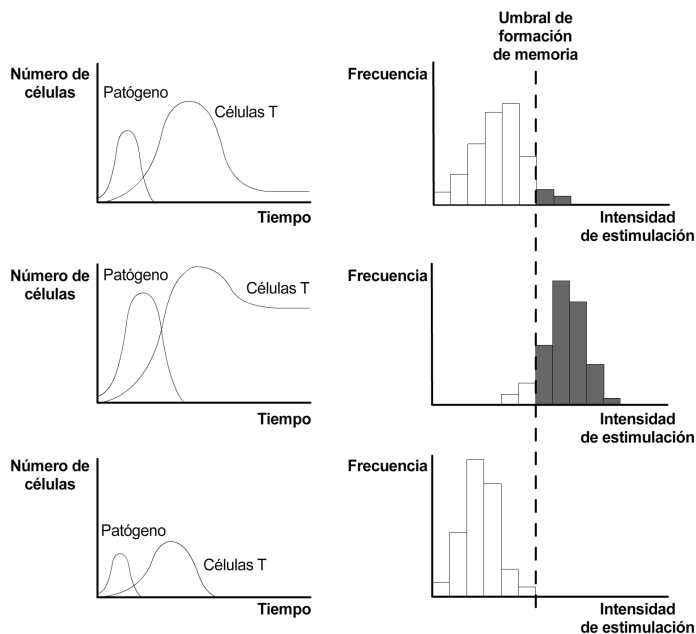
Sin embargo, además de que conceptos como la fuerza o la calidad de la estimulación antigénica no tienen una definición rigurosa, las diferencias en las condiciones ambientales no explican fácilmente por qué el número de linfocitos de memoria está sistemáticamente alrededor del 5 al 10 % del pico de la expansión clonal. Supongamos que existe un umbral absoluto de estimulación antigénica o ambiental de algún tipo que determina el destino de los linfocitos activados, es decir, que solo las células que reciben una estimulación suficiente sobreviven como células de memoria tras la contracción clonal. Dado que condiciones como la afinidad TCR/antígeno o la tasa de crecimiento del patógeno no son necesariamente iguales para todos los clones en cada episodio de infección, es posible que distintos agentes patógenos den lugar a distintos niveles de estimulación de los linfocitos T. En este caso un mismo umbral de estimulación podría afectar a porcentajes distintos de linfocitos activados en infecciones diferentes, lo que daría lugar a poblaciones de memoria muy variables (figura 3.12).

En este trabajo vamos a asumir que la susceptibilidad y la resistencia a la apoptosis no están determinadas por factores externos, sino que son propiedades estructurales de los linfocitos que aparecen en las primeras etapas de la respuesta inmunitaria. Como hemos visto en la sección 3.3.2, la resistencia a la apoptosis se debe a la expresión de receptores de supervivencia IL-7R en la membrana del linfocito. [28]. Estudios empíricos sugieren que la expresión o no de receptores IL-7R está determinada en las primeras fases de la respuesta inmunitaria y es una consecuencia de la división asimétrica de las células T naïve [171, 172].

Se ha observado que la polarización de la membrana celular, inducida por la sinapsis inmunitaria, permite que la maquinaria celular involucrada en las rutas de señalización que determinan el destino celular se reparta de manera asimétrica entre las células hijas [171–178]. De este modo, los linfocitos que aparecen tras la división de las células naïve difieren, por ejemplo, en su predisposición a expresar IL-7R.

A partir de estas evidencias postulamos que las distintas susceptibilidades a la apoptosis que se observan en la contracción clonal se deben a diferencias en los detalles del programa intrínseco entre las células hijas que aparecen tras la división asimétrica de los linfocitos T recién activados. Asumiremos además que tanto los linfocitos susceptibles como los resistentes a la apoptosis pueden dividirse si reciben estimulación antigénica en el curso de la respuesta inmunitaria. Ambos tipos celulares se dividen de manera simétrica, lo que implica que el tipo celular es una característica hereditaria.

Una vez que desaparece el antígeno, las diferencias en el programa intrínseco



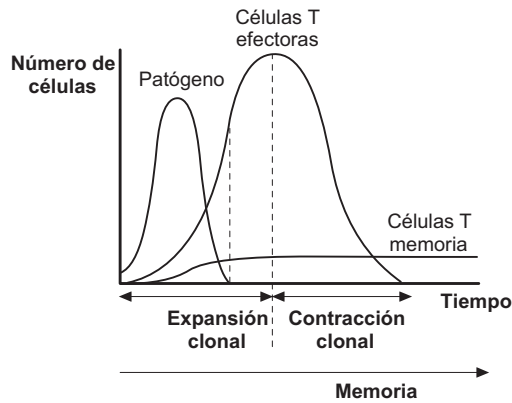
**Figura 3.12:** La existencia de un umbral absoluto de estimulación antigénica que determinase la decisión de los linfocitos entre morir o sobrevivir durante la contracción clonal daría lugar a relaciones muy variables entre el pico de la expansión clonal y el número final de células de memoria.

determinarían los distintos destinos celulares que se observan durante la contracción clonal: la expresión de IL-7R o su ausencia en la membrana celular, originadas como consecuencia de programas intrínsecos alternativos determinan las decisiones entre la supervivencia y la muerte celular (figura 3.13).

De hecho, hay evidencias empíricas de que la misma señal citoquina-receptor puede activar rutas intracelulares distintas en tipos celulares diferentes. Por ejemplo la señal de la IL-7 inhibe la expresión de receptores IL-7R tanto en linfocitos T-killer como en linfocitos T-helper, pero lo hace mediante rutas moleculares diferentes [132, 133]. También se han encontrado diferencias entre linfocitos T-killer y T-helper en las rutas moleculares que relacionan la señal de un receptor con su efecto sobre los inhibidores de ciclo y apoptosis [161, 179–182] o con la expresión de otros receptores [109, 183].

Aunque la asimetría en la división de las células T naïve puede dar lugar inicialmente a un linfocito con fenotipo efector (la célula hija próxima a la sinapsis inmunitaria) y otro con fenotipo memoria (la célula hija distal) [171],





**Figura 3.13:** Bajo la hipótesis de división asimétrica las células T reclutadas en el curso de la respuesta inmunitaria difieren en su sensibilidad a la apoptosis: por una parte hay una población de células que está destinada a desaparecer en la contracción clonal, y por otra, una población resistente a la apoptosis que acabará dando lugar a la población de memoria. Ambas poblaciones pueden proliferar como consecuencia de la presencia del antígeno, y ambas pueden adquirir funciones efectoras, pero son dos poblaciones independientes.

ambos linfocitos podrían adquirir funciones efectoras y por tanto ser indistinguibles externamente. De este modo, la división asimétrica podría dar lugar a células aparentemente idénticas, pero con distintos mecanismos de feedback entre receptores, lo que explicaría las diferencias en la susceptibilidad a la apoptosis durante la contracción clonal. Las células resistentes a la muerte celular perderían la función efectora tras la desaparición del antígeno, adquiriendo el fenotipo característico de las células de memoria.

Evidencias empíricas aparentemente contradictorias sobre el origen de las células T memoria son compatibles bajo esta hipótesis: dependiendo de la activación o no de los linfocitos resistentes a la apoptosis, el fenotipo de memoria puede aparecer directamente a partir de células naïve tras la división asimétrica [184–190], o, alternativamente, a partir de linfocitos efectoras que no mueren durante la contracción clonal [191–200].

Esta hipótesis también explicaría por qué la memoria está siempre alrededor del 5 % de las células efectoras aparecidas durante la expansión (figura 3.13). Todas las células que aparecen a partir de las células naïve activadas, las células efectoras (susceptibles a la apoptosis) como las células precursoras de memoria (que no mueren por apoptosis durante la contracción clonal) pueden dividirse durante la respuesta inmunológica. Para explicar la relación del 95 %–5 % entre células efectoras y células de memoria basta que exista una relación constante entre la tasa de proliferación inducida por el contacto con el antígeno entre

ambos tipos celulares (ver capítulo 5).



## Capítulo 4

# Formalización del programa intrínseco de los linfocitos T CD8+

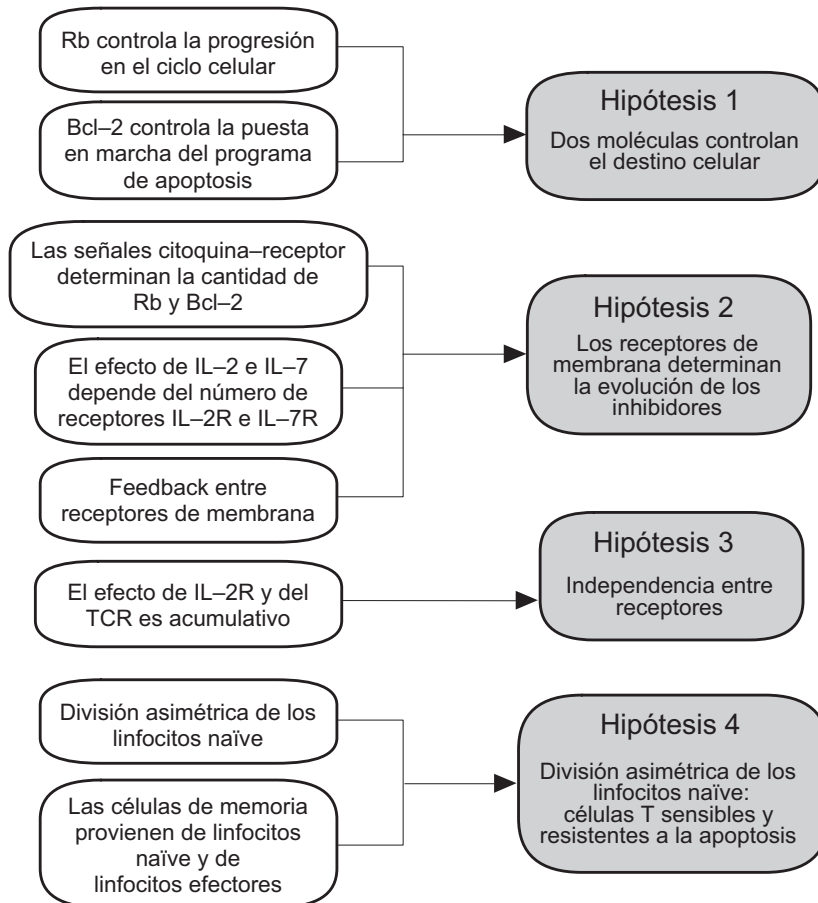
*“It is also common experience that once the number of components in a system reaches a certain threshold, understanding the system without formal analytical tools requires geniuses, who are so rare even outside biology.”*

Y. Lazebnik [201]

En este capítulo formalizaremos las hipótesis formuladas sobre los mecanismos moleculares que subyacen al comportamiento de las células T (ver figura 4.1) con el fin de mostrar que estas hipótesis son suficientes para explicar cómo la dinámica de las poblaciones de linfocitos emerge de las decisiones individuales de dividirse o morir.

En particular, para simplificar el argumento, asumiremos que no se producen errores en la maquinaria celular, y por tanto modelizaremos el algoritmo de decisión del destino de la célula, sin considerar el mecanismo de seguridad descrito en la sección 3.5.

El estado de un linfocito T en cuanto a su elección entre poner en marcha el ciclo celular o el programa de apoptosis, puede describirse en términos matemáticos considerando simultáneamente variables continuas y discretas. Por una parte, las proteínas involucradas en la determinación del destino de la célula (inhibidores y receptores de membrana) pueden modelizarse mediante variables continuas cuya evolución está gobernada por ecuaciones diferenciales. Por otra parte es posible identificar fases discretas en la vida del linfocito que difieren



**Figura 4.1:** Relación entre las evidencias empíricas descritas en la literatura y las hipótesis biológicas propuestas en el Capítulo 3.

en cuanto a la susceptibilidad de la célula a la influencia de estas proteínas. Además, ambos tipos de variables están relacionadas, ya que la evolución de las variables continuas depende del estado discreto y recíprocamente, el cambio de un estado discreto a otro está determinado por la evolución de las variables continuas.

Los linfocitos T CD8+ pueden por tanto considerarse como sistemas dinámicos híbridos [202, 203], y por tanto pueden modelizarse utilizando **autómatas híbridos**, una extensión de los autómatas finitos que resultan de asociar un modelo continuo a cada estado discreto (ver Apéndice A).

## 4.1. Estados discretos del modelo. Fases en la vida de los linfocitos

Los linfocitos deciden en la primera fase del ciclo celular si deben dividirse o suicidarse. Según la Hipótesis 1 (ver página 24) esta decisión está determinada por la dinámica de dos moléculas, la proteína Rb que inhibe la progresión del ciclo celular, y la proteína Bcl-2 que bloquea el programa extrínseco de muerte celular (ACAD), de forma que el primer inhibidor que se desactiva totalmente decide el destino de la célula.

Denotaremos por  $c(t)$  y  $a(t)$  al inhibidor de ciclo y de apoptosis respectivamente. La progresión en el ciclo celular está determinada por la condición  $c(t) = 0$ , mientras que la puesta en marcha de la ACAD ocurre en el instante en que  $a(t) = 0$ . Desde la perspectiva de la Hipótesis 1, los inhibidores permiten diferenciar tres fases relevantes en la vida de los linfocitos:

**Definición 4.1** (Fase de **decisión**). Denominaremos fase de **decisión** a la etapa inicial del ciclo celular de las células T. Esta fase se extiende desde el nacimiento de la célula que uno de los inhibidores  $a(t)$  o  $c(t)$  se anula.

**Definición 4.2** (Fase de **fallo**). Si se detecta un error en el algoritmo de decisión, la célula entra en la fase de **fallo**, en la que tanto el ciclo celular como el programa de apoptosis están detenidos

**Definición 4.3** (Fase de **ciclo**). La fase de **ciclo** es la etapa de la vida celular que transcurre entre el Punto de Restricción (momento en el que se agota el inhibidor de ciclo) y el instante en el que la célula se divide en dos células hijas. Esta etapa incluye el final de la fase G1 y las fases S, G2 y M del ciclo celular. La entrada en esta fase es irreversible y termina con la división de la célula en dos células hijas. Asumiremos que no se cometen errores en el proceso de la división celular, es decir, supondremos que la única vía de apoptosis es la vía extrínseca (ver página 23).

**Definición 4.4** (Fase de **apoptosis**). La fase de **apoptosis** se extiende entre el momento en que se agota el inhibidor de apoptosis ( $a(t) = 0$ ) y el momento en el que se produce la muerte de la célula.

La célula nace inicialmente en el estado de decisión. En caso de errores en alguno de los elementos del algoritmo que determina el destino de la célula, la célula abandona el estado de **decisión** y entra en la fase de **fallo**, lo que detiene la progresión del ciclo celular y la apoptosis. En caso contrario, la célula entra en la fase **ciclo** o **apoptosis**, fases que son mutuamente excluyentes, de modo que el inhibidor que se agota antes en la fase de **decisión** determina la entrada en una u otra fase de la vida de la célula. Supondremos que si ambos inhibidores se agotan a la vez la célula entra en **apoptosis**. Las fases **ciclo** y **apoptosis** tienen una duración constante (ver página 24) que denotaremos por  $t_{ciclo}$  y  $t_{apo}$  respectivamente. La duración de la fase **decisión** (que denotaremos por  $t_{dec}$ ) es variable y depende del tiempo que tarda en agotarse alguno de los inhibidores.

**Definición 4.5** (Fases de **muerte** y fase de **división**). La vida de un linfocito termina una vez que se completa el ciclo celular o bien el programa de muerte celular. Definiremos dos estados discretos adicionales, **división** y **muerte**, para considerar explícitamente cuál el estado final de la célula (ver figura 4.2).

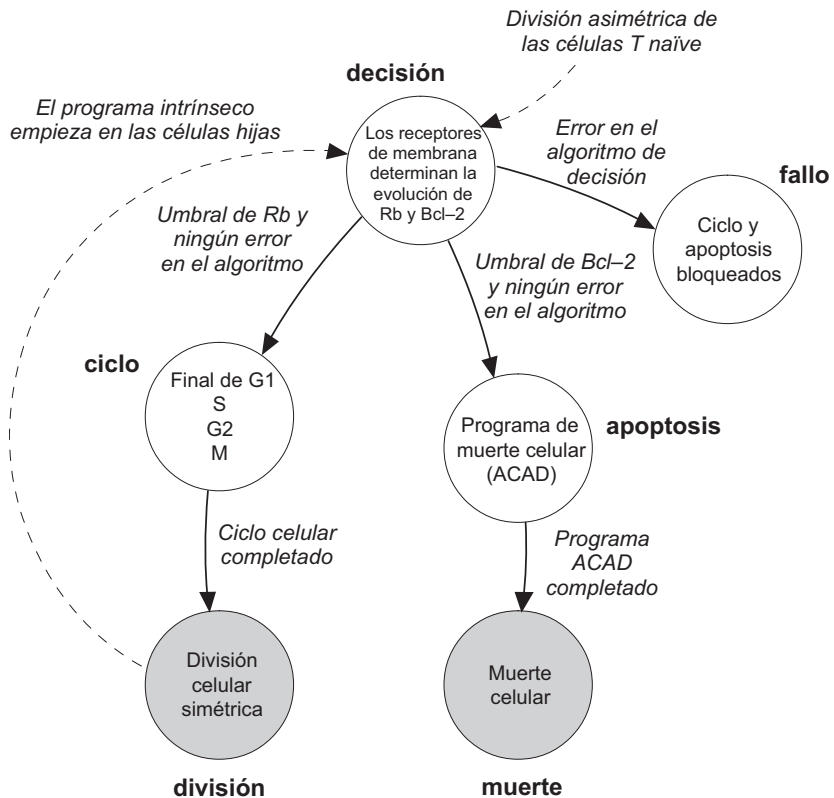
## 4.2. Estados continuos del modelo. Dinámica de los inhibidores y los receptores de membrana

Según la Hipótesis 2 (página 32) la dinámica de los inhibidores está controlada por las señales que recibe la célula de sus receptores de membrana durante la fase **decisión**. Además, el número de señales depende del número de receptores que expresa la célula. Supondremos que la célula tiene  $k$  receptores de citoquinas diferentes que denotaremos por  $R_i$ , con  $i = 1, \dots, k$ . Si  $r_i(t)$  es la cantidad del receptor de membrana  $R_i$  en el instante  $t$ , podemos modelizar la evolución de los inhibidores mediante el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \dot{c}(t) = f_c(r_T(t), r_1, \dots, r_k) \\ \dot{a}(t) = f_a(r_T(t), r_1, \dots, r_k) \end{cases} \quad \text{para } t \leq t_{dec} \quad (4.1)$$

donde  $r_T(t)$  es el número de interacciones TCR-antígeno que recibe la célula en el instante  $t$ .

Por otra parte, el TCR y los receptores de citoquinas determinan la expresión



**Figura 4.2:** Diagrama del programa intrínseco de los linfocitos T. El programa intrínseco puede representarse mediante un grafo dirigido en el que los nodos son los estados discretos del linfocito en relación a Rb y Bcl2, y las aristas (líneas continuas) representan las transiciones posibles entre estados. Las líneas discontinuas indican el vínculo entre el programa intrínseco de un linfocito y el programa de sus células hijas.



e inhibición de otros receptores de citoquinas, es decir, que podemos escribir:

$$\begin{cases} \dot{r}_1(t) = f_1(r_T, r_1, \dots, r_k) \\ \vdots \\ \dot{r}_k(t) = f_k(r_T, r_1, \dots, r_k). \end{cases} \quad (4.2)$$

La Hipótesis 4, de división asimétrica (página 38) implica que las células hijas que aparecen tras la división de las células T naïve son diferentes. Las diferencias entre las células hijas afectan a la dinámica del feedback entre receptores y también al efecto de los receptores sobre los inhibidores de ciclo y apoptosis. En particular, la Hipótesis 4 implica que las funciones  $f_c, f_a, f_t, f_1, \dots, f_n$  son diferentes en las células susceptibles y resistentes a la apoptosis.

Bajo la Hipótesis 3 (página 34) podemos dar una expresión explícita a las funciones de influencia, con lo que la ecuaciones 4.1 se puede reescribir:

$$\begin{cases} \dot{c}(t) = \mu_{Tc} r_T(t) + \sum_{j=1}^k \mu_{jc} r_j(t) \\ \dot{a}(t) = \mu_{Ta} r_T(t) + \sum_{j=1}^k \mu_{ja} r_j(t), \end{cases} \quad (4.3)$$

donde  $\mu_{Tc}$  (respectivamente  $\mu_{Ta}$ ) y  $\mu_{ic}$  (respectivamente  $\mu_{ia}$ ) representan el cambio en los inhibidores de ciclo (respectivamente de apoptosis) inducido por las señales TCR o las señales de los receptores  $R_i$  (para  $i = 1, \dots, k$ ).

Análogamente, para la ecuación 4.2 tenemos:

$$\begin{cases} \dot{r}_1(t) = \lambda_{T1} r_T(t) + \sum_{j=1}^k \lambda_{j1} r_j(t) \\ \vdots \\ \dot{r}_k(t) = \lambda_{Tk} r_T(t) + \sum_{j=1}^k \lambda_{jk} r_j(t), \end{cases} \quad (4.4)$$

donde  $\lambda_{Ti}$  y  $\lambda_{ji}$  representan el cambio en la cantidad de receptores  $R_i$  debido a las señales del TCR y el receptor  $R_j$  respectivamente (para  $i, j = 1, \dots, k$ ).

Los detalles de la transducción de la señal no son considerados explícitamente en el modelo. En su lugar, las relaciones entre las señales de los receptores de membrana y las moléculas diana (tanto las proteínas inhibidoras como otros receptores de membrana) se cuantifica mediante los parámetros  $\mu_{Tc}, \mu_{Ta}, \mu_{ic}, \mu_{ia}, \lambda_{Ti}$  y  $\lambda_{ji}$  (para  $i, j = 1, \dots, k$ ). La hipótesis de división asimétrica implica que las células hijas que aparecen tras la división de las células naïve recién activadas difieren en los detalles del feedback entre los receptores de membrana, y en el efecto de los receptores sobre las moléculas inhibidoras. Por tanto, el valor de los parámetros anteriores puede ser distinto dependiendo del tipo celular (resistente y susceptible a la apoptosis).

Por otra parte, dado que hemos asumido que las citoquinas se encuentran en equilibrio, o bien en concentraciones localmente saturadas, la probabilidad

de interacción con una citoquina es la misma para todos los receptores del mismo tipo. Esta probabilidad está implícitamente considerada en el valor de los parámetros  $\lambda_{ji}$ ,  $\mu_{ic}$  y  $\mu_{ia}$  (para  $i, j = 1, \dots, k$ ).

Mientras que  $\lambda_{ji}$ ,  $\mu_{ic}$  y  $\mu_{ia}$  (para  $i, j = 1, \dots, k$ ) son idénticos en todos los linfocitos T del mismo tipo (efectores o memoria), los parámetros  $\lambda_{Ti}$  (para  $i = 1, \dots, k$ ),  $\mu_{Tc}$  y  $\mu_{Ta}$  pueden ser distintos en clones diferentes de linfocitos T, dependiendo de la afinidad del TCR por el antígeno.

Al contrario que las citoquinas, la cantidad de antígeno disponible depende del número de linfocitos activados y no se encuentra en equilibrio durante la respuesta inmunitaria. Por tanto, el número de señales del TCR que recibe una célula depende tanto de la cantidad de patógenos, como del tamaño de la población de linfocitos. Por esta razón, la probabilidad de recibir una señal del TCR no está incluida implícitamente en los parámetros del autómata híbrido, sino que se cuantifica explícitamente en el modelo poblacional descrito a continuación.

### 4.3. Modelo 1. Los linfocitos T como autómatas híbridos

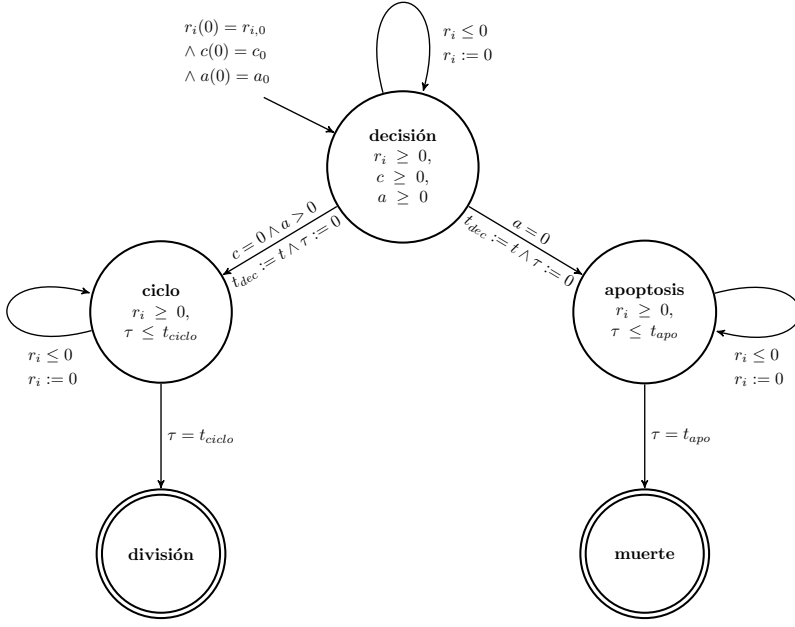
En la figura 4.3 se muestra el grafo del autómata híbrido  $H_T$  que modeliza el algoritmo de decisión del destino celular en los linfocitos T (la definición formal del autómata  $H_T$  puede verse en el Apéndice B). La célula comienza su existencia en la fase de **decisión**, con una cantidad inicial de inhibidores de ciclo y apoptosis (denotados por  $c_0$  y  $a_0$  respectivamente) y de receptores de membrana ( $r_{i0}$ , para  $i = 1, \dots, k$ ).

Durante la fase de **decisión** tanto los receptores de membrana como las proteínas inhibidoras evolucionan de acuerdo con el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \dot{c}(t) = \mu_{Tc}r_T(t) + \sum_{j=1}^k \mu_{jc}r_j(t) \\ \dot{a}(t) = \mu_{Ta}r_T(t) + \sum_{j=1}^k \mu_{ja}r_j(t) \\ \dot{r}_i(t) = \lambda_{Ti}r_T(t) + \sum_{j=1}^k \lambda_{ji}r_j(t), \quad i = 1, \dots, k \\ c(0) = c_0 \\ a(0) = a_0 \\ r_i(0) = r_{i0}, \quad i = 1, \dots, k. \end{cases} \quad (4.5)$$

Las condiciones  $a(t) \geq 0$ ,  $c(t) \geq 0$  y  $r_i(t) \geq 0$  para algún  $i = 1, \dots, k$ , definen el dominio del sistema de ecuaciones 4.5.

Si algún receptor toma un valor negativo el valor de este receptor se actualiza a 0 sin que se produzca ningún cambio en el estado discreto del modelo.



**Figura 4.3:** Grafo del autómata híbrido  $H_T$  que modeliza la vida de un linfocito T.

Por su parte, las condiciones  $a(t) = 0$  y  $c(t) = 0$  provocan transiciones instantáneas del estado **decisión** al estado **apoptosis** y **ciclo** respectivamente, y al mismo tiempo determinan la duración de la fase de **decisión** ( $t_{dec}$ ). A partir de este instante la evolución de los inhibidores ya no depende de los receptores de membrana. De hecho, esta evolución ya no es relevante para la vida de la célula, con lo que no será modelada explícitamente en los estados **apoptosis** y **ciclo**.

Las ecuaciones de las fases de **apoptosis** y **ciclo** son por tanto las siguientes:

$$\begin{cases} \dot{r}_1(\tau) = \lambda_{T1} r_T(\tau) + \sum_{j=1}^k \lambda_{j1} r_j(\tau) \\ \vdots \\ \dot{r}_k(\tau) = \lambda_{Tk} r_T(\tau) + \sum_{j=1}^k \lambda_{jk} r_j(\tau), \end{cases} \quad (4.6)$$

donde  $\tau = t - t_{dec}$ .

Tanto en **apoptosis** como en **ciclo** los receptores que alcanzan un valor negativo se actualizan a 0 sin inducir ningún cambio en el estado discreto del autómata.

Una vez que se completa el ciclo celular o el programa de apoptosis (condi-

ciones  $\tau = t_{ciclo}$  y  $\tau = t_{apo}$  respectivamente), el linfocito abandona la fase de **ciclo** o **apoptosis** y alcanza un estado final (**división** o **muerte**), con lo que termina la vida del linfocito.

## 4.4. Modelo 2. Interacción entre los linfocitos T durante la respuesta inmunitaria

El autómata  $H_T$  modeliza la vida de un linfocito T individual desde su nacimiento hasta la división o la muerte celular. El comportamiento de la célula depende del número de señales TCR que recibe. Para poder modelizar el comportamiento de una población de linfocitos efectores es necesario por tanto, considerar simultáneamente los autómatas híbridos que modelizan el funcionamiento de cada célula y la evolución del agente patógeno.

Los detalles concretos de la proliferación de las células patógenas en los tejidos del huésped y de su eliminación por parte de las células T son muy diferentes dependiendo de la naturaleza del agente infeccioso. En este trabajo no tendremos en cuenta explícitamente estos detalles, sino que consideraremos un modelo que reproduce la dinámica observada del patógeno.

### 4.4.1. Hipótesis 5. Dinámica del patógeno durante la respuesta inmunitaria

*Asumiremos que la población del patógeno evoluciona de acuerdo a la ecuación:*

$$\dot{y}(t) = \alpha y(t) - \beta n(t)y(t), \quad (4.7)$$

*donde  $y(t)$  y  $n(t)$  representan el número de células del patógeno y de linfocitos T en el instante  $t$  respectivamente, y  $\alpha$  y  $\beta$  son parámetros positivos que dependen del agente infeccioso.*

Según este modelo, el patógeno prolifera hasta que la población de células T efectoras alcanzan un tamaño crítico. A partir de entonces la tasa de crecimiento se hace negativa, lo que provoca la disminución de la población del patógeno.

Asumiremos que las señales del TCR son proporcionales al número de moléculas de antígeno que percibe cada linfocito, lo que a su vez depende del número de células del patógeno y de la población de linfocitos.

Denotando por  $r_T^x(t)$  el número de señales del TCR recibidas por el linfocito  $x$  y por  $n$  el número de células T en el instante  $t$ , podemos escribir:

$$r_T^x(t) = \gamma \rho_n^x y(t), \quad (4.8)$$

La ecuación 4.8 resume todos los acontecimientos que tienen lugar entre la detección del patógeno por parte de las células inmunitarias y la interacción TCR/antígeno en la membrana de los linfocitos T. El parámetro  $\gamma$  es específico del antígeno y denota la probabilidad de activación de un TCR individual en el linfocito  $x$  debida a las moléculas de antígeno presentes en el patógeno.

Por otra parte,  $\rho_n^x$  es un parámetro que representa la cantidad de antígeno que está disponible para un linfocito individual  $x$  cuando la población de linfocitos T es de  $n$  células. Por tanto, tenemos:

$$\sum_{x=1}^n \rho_n^x \leq 1. \quad (4.9)$$

Finalmente es necesario determinar las condiciones iniciales, es decir, el número de receptores de membrana en las células hijas tras la división celular. Al contrario que ocurre con las células naïve, la división de los linfocitos efectores y memoria es simétrica, de modo que las células hijas heredan el tipo celular.

#### 4.4.2. Hipótesis 6. Los receptores de membrana se reparten entre las células hijas tras la división celular

*Los receptores de membrana se reparten entre las células hijas después de la división simétrica de los linfocitos susceptibles y resistentes a la apoptosis.*

En concreto, denotando por  $r_{i0}^1, r_{i0}^2$  los valores iniciales del receptor  $R_i$  en las células hijas 1 y 2 respectivamente, y por  $r_i^x$  el número de receptores  $R_i$  en la membrana del linfocito  $x$  en el instante de la división celular, podemos escribir:

$$\begin{cases} r_{i0}^1 = \delta_i^x r_i^x \\ r_{i0}^2 = (1 - \delta_i^x) r_i^x, \end{cases} \quad (4.10)$$

donde  $\delta_i^x$  es un parámetro cuyo valor está entre 0 y 1.

El modelo tampoco incluye de manera explícita el proceso de activación de las células naïve, sino que las simulaciones parten de una situación inicial en la que hay un número  $y_0$  de células del patógeno, y una población de células efectoras y de memoria que provienen de la división asimétrica de  $n_0$  células naïve específicas. En cada iteración se actualizan tanto la población del patógeno como los autómatas híbridos correspondientes a cada célula individual (denotaremos por  $H_T^x$  el autómata correspondiente al linfocito  $x$ ). El nuevo tamaño de la población del patógeno se calcula mediante la ecuación 4.7. Por otra parte, el número de señales TCR recibidas por un linfocito  $x$ , dadas por la ecuación 4.8 se usa como input del autómata híbrido  $H_T^x$  para calcular el estado discreto y el estado continuo. Si el autómata  $H_T^x$  alcanza el estado final **muerte**, el linfocito  $x$  desaparece de la población de linfocitos. Al contrario, si el autómata  $H_T^x$

acaba en la fase de **división**, el linfocito  $x$  es sustituido por dos nuevas células del mismo tipo, cuyas condiciones iniciales están determinadas por la ecuación 4.10.

En la Tabla 1 se muestran los parámetros del autómata híbrido  $H_T$  y del modelo poblacional.

**Cuadro 4.1:** Descripción de los parámetros usados en el autómata híbrido  $H_T$  y en el modelo poblacional.

Tipo de parámetro	Parámetro	Descripción
Parámetros estructurales	$k$	Número de receptores de membrana
	$t_{cycle}, t_{apo}$	Duración de las fases de <b>ciclo</b> y <b>apoptosis</b>
	$c_0, a_0$	Cantidad inicial de inhibidores de ciclo y apoptosis
	$\lambda_{ij}$	Tasa de cambio del receptor $R_j$ por cada señal $R_i$
	$\mu_{ic}, \mu_{ia}$	Tasas de cambio de las moléculas inhibidoras por cada señal $R_i$
	$\lambda_{Tj}$	Tasa de cambio del receptor $R_j$ por cada señal del TCR
	$\mu_{Tc}, \mu_{Ta}$	Tasa de cambio de las moléculas inhibidoras por cada señal del TCR
Parámetros del linfocito	$r_{i0}^x$	Cantidad inicial de receptores $R_i$ en la membrana del linfocito $x$
	$\rho_n^x$	Proporción del antígeno disponible para el linfocito $x$ en una población de $n$ células
	$\delta_i^x$	Coefficiente de reparto del receptor $R_i$ entre las células hijas
Parámetros del patógeno	$\alpha$	Tasa de proliferación
	$\beta$	Tasa de eliminación del patógeno por linfocito
	$y_0$	Número inicial de células patógenas
Parámetros del antígeno	$\gamma$	Probabilidad de una señal TCR por célula del patógeno
	$n_0$	Número inicial de células T naïve específicas para el antígeno

## Capítulo 5

# Comportamientos poblacionales emergentes de las células T CD8+

*“Scientists have been asking the wrong question. They have focused upon complexity as the thing that requires explanation, and they have taken simplicity for granted. The answer to complexity turns out to be fairly obvious and not, in itself, especially interesting: if you have a lot of simple interactors, and let them interact, the result can be rather complicated. The interesting question is precisely the opposite, the question that most scientists never thought to ask because they didn’t see that there was a question to ask. Where does the simplicity come from?”*

Ian Stewart y Jack Cohen. *The collapse of chaos : discovering simplicity in a complex world.*

En este capítulo mostraremos como el modelo de decisión del destino celular propuesto en el capítulo anterior reproduce el comportamiento individual y también el comportamiento colectivo observado de las poblaciones de linfocitos T CD8+ durante una infección aguda.

Para ello consideraremos una versión sencilla del algoritmo en la que sólo dos tipos de receptores (que denominaremos de proliferación y muerte) controlan la evolución de los inhibidores de ciclo y apoptosis. Los detalles del algoritmo para los linfocitos sensibles y resistentes a la apoptosis se muestran en secciones distintas.



## 5.1. Los linfocitos sensibles a la apoptosis. El inicio de la contracción clonal

En esta sección asumiremos que, en los linfocitos sensibles a la apoptosis, las señales TCR estimulan la producción de receptores de proliferación y que éstos, a su vez, inhiben su propia expresión e inducen la aparición de receptores de muerte.

En esta situación, la fase de **decisión** está descrita por las siguientes ecuaciones:

$$\begin{cases} \dot{c}(t) = -\mu_{pc}p(t) \\ \dot{a}(t) = -\mu_{da}d(t) \\ \dot{p}(t) = \lambda_{Tp}r_T(t) - \lambda_{pp}p(t) \\ \dot{d}(t) = \lambda_{pd}p(t) \\ c(0) = c_0 \\ a(0) = a_0 \\ p(0) = p_0 \\ d(0) = d_0 \end{cases} \quad (5.1)$$

donde  $p(t)$  y  $d(t)$  denotan el número de receptores de proliferación y muerte en el instante  $t$  respectivamente, y el valor de los parámetros  $\mu_{pc}$ ,  $\mu_{da}$ ,  $\lambda_{Tp}$ ,  $\lambda_{pp}$  y  $\lambda_{pd}$  puede ser diferente en los linfocitos efectores y memoria (como se ha descrito en la sección anterior).

Esta simplificación captura la esencia del modelo original y sirve para ilustrar cómo la dinámica de las poblaciones de linfocitos puede emerger como resultado de decisiones autónomas tomadas en cada instante por las células T individuales.

Denotaremos por  $t_0$  el instante en el que un linfocito concreto recibe su última señal antigénica, es decir, asumiremos que  $r_T(t) = 0$  para  $t > t_0$  y  $r_T(t) > 0$  para  $0 \leq t \leq t_0$ . Reescalaremos el tiempo cambiando  $(t - t_0)$  por  $\lambda_{pp}(t - t_0)$  y, para simplificar la notación, continuaremos denotando la nueva variable por  $t$ .

De este modo, las ecuaciones 5.1 pueden reescribirse en forma adimensional

como sigue:

$$\begin{cases} \dot{c}(t) = -p(t) \\ \dot{a}(t) = -d(t) \\ \dot{p}(t) = -p(t) \\ \dot{d}(t) = \tilde{\lambda}_{pd}p(t) \\ c(0) = 1 \\ a(0) = 1 \\ p(0) = \tilde{p}_0 \\ d(0) = \tilde{d}_0 \end{cases} \quad (5.2)$$

con

$$\tilde{p}_0 = \frac{p(t_0)}{c(t_0)} \frac{\mu_{pc}}{\lambda_{pp}}, \quad \tilde{d}_0 = \frac{d(t_0)}{a(t_0)} \frac{\mu_{da}}{\lambda_{pd}} \quad \text{y} \quad \tilde{\lambda}_{pd} = \frac{c(t_0)}{a(t_0)} \frac{\lambda_{pd}}{\lambda_{pp}} \frac{\mu_{da}}{\mu_{pc}}.$$

Para cualquier valor fijo del parámetro estructural  $\tilde{\lambda}_{pd}$ , la evolución de la fase de **decisión**, y por tanto el destino del individuo, están determinados exclusivamente por las condiciones iniciales  $\tilde{p}_0$  y  $\tilde{d}_0$ .

Integrando la ecuación anterior, obtenemos una expresión explícita que describe la evolución de la cantidad del inhibidor de ciclo en el tiempo:

$$c(t) = 1 + \tilde{p}_0(e^{-t} - 1). \quad (5.3)$$

Análogamente, para el inhibidor de apoptosis tenemos:

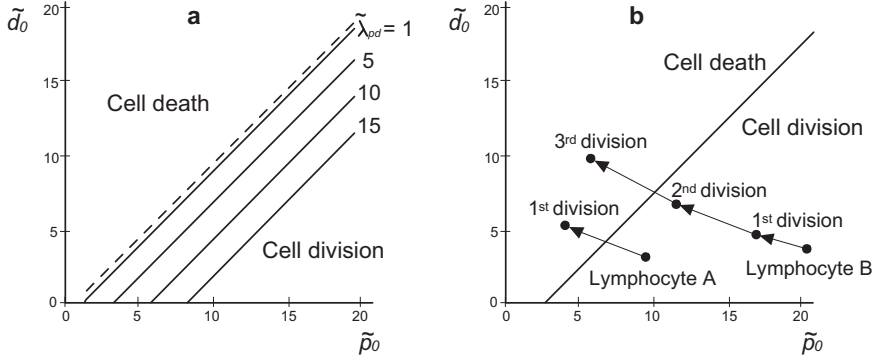
$$a(t) = 1 - \tilde{d}_0 t + \tilde{\lambda}_{pd} \tilde{p}_0 (1 - e^{-t} - t). \quad (5.4)$$

Usando la ecuación 5.3 podemos calcular el tiempo necesario para que el inhibidor de ciclo desaparezca, y que denotaremos por  $t_c$ :

$$t_c = \begin{cases} \ln\left(\frac{\tilde{p}_0}{\tilde{p}_0 - 1}\right) & \text{if } \tilde{p}_0 > 1 \\ \infty & \text{if } \tilde{p}_0 \leq 1 \end{cases} \quad (5.5)$$

A partir de esta expresión observamos que el linfocito sólo se divide si se satisfacen las condiciones iniciales adecuadas (caracterizadas por la condición  $\tilde{p}_0 > 1$ ). Por otra parte, si alguno de los parámetros  $\tilde{p}_0$  o  $\tilde{d}_0$  es positivo,  $a(t)$  es monótona decreciente y se hace cero en algún instante  $t = t_a < \infty$ . Dado que el contacto con el antígeno provoca la expresión de receptores de proliferación, y que éstos a su vez inducen la producción de receptores de muerte, ambos parámetros son positivos en un linfocito activado, lo que implica que la célula sólo puede dividirse o morir, dependiendo de cuál de los tiempos  $t_c$  o  $t_a$  es menor.

Por tanto, el signo de  $a(t_c)$  determina el destino de la célula tras la fase de **decisión**: si  $a(t_c) > 0$  la célula entra en la fase de ciclo, mientras que si  $a(t_c) \leq 0$ ,



**Figura 5.1:** a.) Regiones de división y muerte celular, definidas por la condición 5.6 para distintos valores del parámetro estructural  $\tilde{\lambda}_{pd}$ . Los linfocitos deciden dividirse o morir dependiendo exclusivamente del número de receptores de proliferación ( $\tilde{p}_0$ ) y muerte ( $\tilde{d}_0$ ) expresados en su membrana cuando dejan de recibir estimulación antigénica. b.) Los linfocitos T sensibles a la apoptosis pueden dividirse en ausencia de estimulación antigénica. La cantidad inicial de receptores de proliferación y muerte en el momento del nacimiento de la célula (y por tanto el valor de  $\tilde{p}_0$  y  $\tilde{d}_0$  son diferentes en los linfocitos A y B, debido a su historia de contacto con el antígeno. Sin embargo, ambos se dividen, ya que verifican la condición 5.6. El número de receptores de proliferación disminuye en ausencia del antígeno (ver ecuación 5.1). Por esta razón, los linfocitos que aparecen tras sucesivas rondas de división, una vez que ha desaparecido el patógeno, se encuentran cada vez más cerca de la zona de apoptosis y por tanto, la descendencia de los linfocitos A y B acabará desapareciendo. Sin embargo, el número de divisiones celulares antes de la contracción es mayor para el linfocito B. (Asumimos que los receptores de membrana se reparten homogéneamente entre las células hijas.)

se pone en marcha el programa de ACAD y la célula muere. Introduciendo esta condición en la ecuación 5.4, concluimos que, para cualquier valor del parámetro estructural  $\tilde{\lambda}_{pd}$ , el linfocito se divide si y sólo si:

$$\tilde{d}_0 \leq \frac{1}{t_c}(1 + \tilde{\lambda}_{pd}) - \tilde{\lambda}_{pd}\tilde{p}_0. \quad (5.6)$$

El número de inhibidores y de receptores de membrana en el instante  $t = t_0$ , y por tanto el valor de  $\tilde{d}_0$  y de  $\tilde{p}_0$ , dependen del número de señales TCR acumuladas por el linfocito desde su nacimiento, es decir, para  $0 \leq t \leq t_0$ .

Cualquier célula T cuyos receptores de membrana en el instante  $t_0$  verifiquen la condición 5.6 se dividirán, incluso en ausencia de cualquier estimulación antigénica posterior (figura 5.1.a).

En este caso, la duración de la fase de **decisión** viene dada por  $t_{dec} = t_c$ . Por otra parte, los receptores de membrana evolucionan durante la fase **ciclo**

de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$\begin{cases} \dot{p}(\tau) = -p(\tau) \\ \dot{d}(\tau) = \tilde{\lambda}_{pd}p(\tau) \end{cases} \quad (5.7)$$

para  $0 \leq \tau \leq t_{ciclo}$ .

En el instante  $\tau = t_{ciclo}$  el linfocito se divide y sus receptores de membrana se reparten entre las células hijas de acuerdo con la ecuación 4.10. De este modo, la experiencia antigénica de un linfocito determina el número de receptores en la membrana de las células hijas después de la división celular, lo que a su vez determina el destino de las células hijas en el caso de que éstas no entren en contacto con el antígeno. De hecho, los linfocitos que verifiquen la condición 5.6 en el momento de su nacimiento acabarán dividiéndose incluso si ya no hay moléculas de antígeno disponibles. Dado que la ausencia del patógeno se traduce en la ausencia de señales del TCR [35], la ecuación 5.1 modeliza la situación esperada para todos los linfocito T sensibles a la apoptosis una vez que el agente patógeno ha sido eliminado del organismo. Así, la proliferación de las células efectoras tras la desaparición del patógeno se explica como una consecuencia de las señales antigénicas acumuladas en las generaciones previas de linfocitos.

En ausencia de antígeno, la autoregulación negativa de las señales de proliferación y su reparto entre las células hijas, implican que, tras cada evento de división celular, los linfocitos se encuentran cada vez más cerca de la frontera de la región de muerte celular representada en la figura 5.1.a. Después de un número variable de divisiones celulares, la descendencia de un linfocito acabará incumpliendo la condición 5.6, con lo que los linfocitos dejarán de dividirse y morirán (ver figura 5.1.b), lo que se manifiesta macroscópicamente como el inicio de la contracción clonal.

## 5.2. Los linfocitos resistentes a la apoptosis. El origen de los linfocitos de memoria

De acuerdo con la Hipótesis 4, los linfocitos T CD8+ resistentes a la apoptosis no mueren durante la contracción clonal, pero pueden proliferar como consecuencia de la estimulación antigénica. Para ilustrar el funcionamiento del programa intrínseco en este tipo celular no consideraremos la evolución del inhibidor de apoptosis, y nos centraremos exclusivamente en el inhibidor de ciclo celular. Con este fin, asumiremos que el contacto con el antígeno inducen la expresión de receptores de proliferación, los cuales a su vez promueven la eliminación del inhibidor de ciclo, propiciando la división celular. Asumiremos, además, que los receptores de proliferación se autoregulan, impidiendo la ex-

presión de nuevos receptores en la membrana. Bajo estas hipótesis, la fase de **decisión** puede modelizarse mediante el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \dot{c}(t) = -\mu_{pc}p(t) \\ \dot{p}(t) = \lambda_{Tp}r_T(t) - \lambda_{pp}p(t) \\ c(0) = c_0 \\ p(0) = p_0 \end{cases} \quad (5.8)$$

donde  $\mu_{pc}$ ,  $\lambda_{Tp}$  y  $\lambda_{pp}$  son parámetros positivos.

Para mostrar cómo las células T resistentes a la apoptosis dejan de dividirse en un momento determinado para dar lugar a una población constante de células de memoria (ver figura 3.13), denotaremos por  $t_0$  el instante en el que tiene lugar la última estimulación antigénica del linfocito, es decir, supondremos que  $r_T(t) = 0$  para  $t > t_0$  y  $r_T(t) > 0$  para  $0 \leq t \leq t_0$ .

Siguiendo un razonamiento análogo al de la sección anterior, obtenemos que el tiempo necesario para que desaparezca el inhibidor de ciclo viene dado por:

$$t_c = \begin{cases} \ln\left(\frac{\tilde{p}_0}{\tilde{p}_0 - 1}\right) & \text{if } \tilde{p}_0 > 1 \\ \infty & \text{if } \tilde{p}_0 \leq 1 \end{cases} \quad (5.9)$$

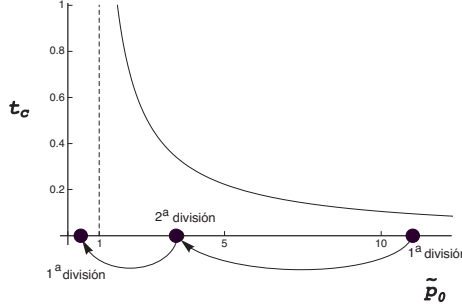
donde:  $\tilde{p}_0 = \frac{p(t_0)}{c(0)} \frac{\mu_{pc}}{\lambda_{pp}} e^{\lambda_{pp}t_0}$ .

Dependiendo del número de receptores de proliferación y de la cantidad de ciclo celular en  $t = t_0$ , las células resistentes a la apoptosis pueden dividirse, incluso sin necesidad de estimulación antigénica posterior. Sin embargo, dado que el número de receptores de proliferación presentes en la membrana celular disminuye tras cada episodio de división, los linfocitos resistentes a la apoptosis dejarán de cumplir la condición  $\tilde{p}_0 > 1$  en algún instante, lo que implica que dejan de dividirse (figure 5.2).

Así, mientras que la existencia de linfocitos de memoria está ya determinada tras la activación de las células naïve, la cantidad final de linfocitos de memoria depende de la evolución de infección (ver sección 5.3).

### 5.3. El comportamiento colectivo de los linfocitos T CD8+ emerge de la ejecución del programa intrínseco

En esta sección mostraremos que incluso una versión simple del autómata híbrido  $H_T$  produce el comportamiento poblacional observado en las células

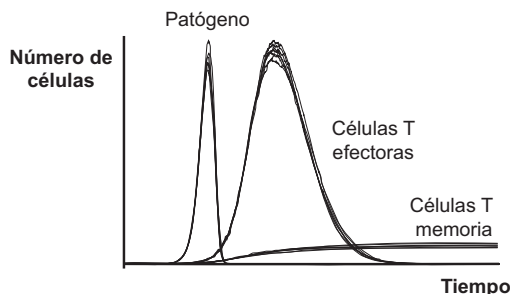


**Figura 5.2:** Tiempo necesario para la desaparición del inhibidor de ciclo en función del parámetro  $\tilde{p}_0$ . Después de la desaparición del patógeno, las células T resistentes a la apoptosis pueden dividirse varias veces. La autoregulación negativa de los receptores de proliferación, junto con el reparto de los receptores entre las células hijas tras cada división celular hacen que cada generación de linfocitos resistentes a la apoptosis esté más cerca de la condición  $\tilde{p}_0 \leq 1$ , lo que impide divisiones posteriores.

T durante la respuesta inmunitaria. Asumiremos que el autómata híbrido correspondiente a las células sensibles y resistentes a la apoptosis difieren en los detalles del algoritmo de decisión del destino celular (como se ha descrito en las secciones anteriores). Por otra parte, consideraremos que el parámetro  $\lambda_{Tp}$  es mayor en las células efectoras que en las células memoria, de modo que los linfocitos efectoras expresarán más receptores de proliferación como consecuencia del contacto con el antígeno. También supondremos que el acceso a las moléculas de antígeno es heterogéneo. Esta circunstancia puede simularse asignando valores aleatorios a los parámetros  $\rho_n^x$ , e imponiendo la condición  $\sum_{x=1}^n \rho_n^x = 1$ .

En la figura 5.3 se muestran varias simulaciones numéricas del modelo poblacional bajo las hipótesis anteriores, y para una selección particular del valor de los parámetros adimensionales del modelo que se obtiene al reescalar el tiempo (cambiando  $t$  por  $\lambda_{pp}t$ ) en las ecuaciones 5.1 y 4.7.

El modelo población descrito anteriormente reproduce comportamientos característicos de las poblaciones de linfocitos T durante la respuesta inmunológica. La hipótesis 4 (de división asimétrica de las células naïve) permite considerar los linfocitos efectoras y los linfocitos memoria como poblaciones independientes. Ambos tipos celulares proliferan como consecuencia del contacto con el antígeno. Sin embargo, las diferencias en los detalles del autómata  $H_T$  explican por qué las células efectoras mueren durante la contracción clonal, mientras que las células de memoria sobreviven. Además, el valor relativo del parámetro  $\lambda_{Tp}$  en células efectoras y de memoria determina la relación entre el pico de la expansión clonal y el número final de linfocitos de memoria.

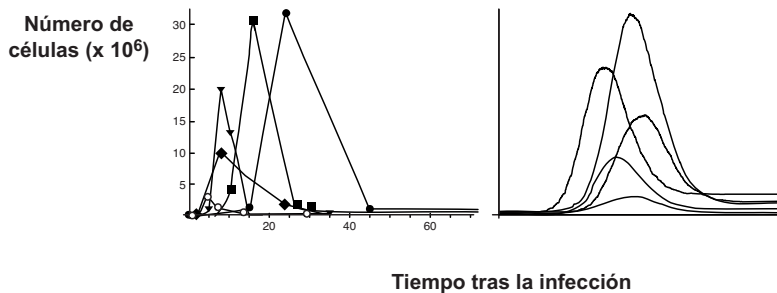


**Figura 5.3:** Simulaciones numéricas del modelo poblacional descrito en el texto.  $\tilde{t}_{cycle} = 0,15$ ,  $\tilde{t}_{apo} = 0,20$ ,  $\tilde{\alpha} = 10$ , y  $\tilde{\beta} = 0,015$ . Para las células efectoras asumimos  $\tilde{\lambda}_{pd} = 0,5$ , y  $\gamma\tilde{\lambda}_{Tp} = 6 \times 10^{-5}$ , mientras que para las células de memoria tomamos  $\tilde{\lambda}_{pd} = 0$ , y  $\gamma\tilde{\lambda}_{Tp} = 10^{-5}$ . Asumimos una población inicial  $n_0$  de 100 linfocitos. Estas células no expresan receptores de proliferación y muerte en el instante inicial, es decir,  $\tilde{r}_{p0}^x = \tilde{r}_{d0}^x = 0$ , para  $x = 1, \dots, n_0$ . Los coeficientes de reparto de los receptores de proliferación y muerte entre las células hijas,  $\delta_p^x$  y  $\delta_d^x$  toman, para cada linfocito  $x$  que se divide, un valor aleatorio entre 0,4 y 0,6. Finalmente, las moléculas disponibles de antígeno se reparten aleatoriamente entre todos los linfocitos que coexisten simultáneamente.

## 5.4. La dinámica poblacional de linfocitos T se adapta a distintos agentes patógenos

Las células T CD8+ muestran un comportamiento cualitativo que se repite independientemente del agente patógeno causante de la respuesta. Sin embargo, los detalles cuantitativos que se refieren al número máximo de células que aparecen durante la expansión clonal o al momento exacto en que se alcanza este máximo, son muy variables en distintos episodios de infección (figura 5.4.a). Asumiendo que el programa intrínseco es el mismo en todos los linfocitos T, esta heterogeneidad debe ser el resultado de la interacción entre las células activadas con agentes patógenos distintos.

En la figura 5.4.b se observan una serie de simulaciones del modelo poblacional en las que todos los parámetros, excepto los que se refieren al comportamiento dinámico del patógeno, valen lo mismo que en la figura 5.3. El modelo reproduce sistemáticamente el mismo comportamiento cualitativo, aunque con diferencias en el pico de la expansión clonal y la formación de memoria. En particular, la proporción entre el máximo de la expansión y la magnitud de la población final de memoria es consistente con lo que se ha observado en estudios empíricos. La figura 5.4.b muestra que un programa fijo implementado en las células T puede dar lugar a un comportamiento colectivo flexible, capaz de ajustar la respuesta inmunitaria a un amplio rango de agentes patógenos. Los



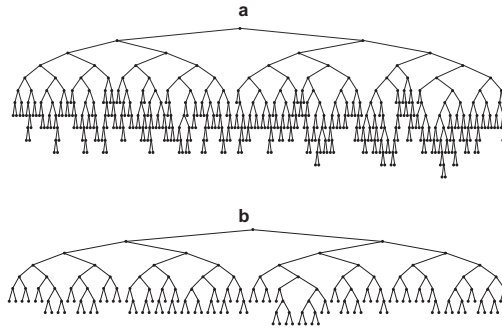
**Figura 5.4:** a) Datos empíricos muestran que los detalles cuantitativos de la respuesta inmunitaria de las células T son diferentes dependiendo de la infección (fuente: referencias [204–206]). b) Simulaciones numéricas del modelo poblacional para distintos parámetros específicos del patógeno (el resto de los parámetros se han tomado como en la figura 5.3).

parámetros estructurales del modelo representan procesos biológicos explícitos. Por ello, estos parámetros deberían medirse mediante experimentos diseñados para ello. Además, es de esperar que el valor de estos parámetros no varíe significativamente entre linfocitos clonales, por lo que la robustez del programa intrínseco debería definirse en términos de la persistencia del comportamiento de la población de células T ante la variación de los parámetros dinámicos del patógeno, y no ante la variación de los parámetros estructurales.

## 5.5. El número de divisiones tras la activación de las células naïve es un resultado emergente del programa intrínseco

La figura 5.5 muestra que el patrón de divisiones celulares en los linfocitos T efectores que comparten un mismo programa intrínseco puede ser muy diferente dependiendo de los parámetros dinámicos del patógeno. De hecho, no es necesario que el número de divisiones esté explícitamente implementado en las células T, sino que, al contrario, debería considerarse como un resultado emergente de la ejecución del programa intrínseco.





**Figura 5.5:** Descendencia de una célula T efectora en dos respuestas inmunitarias diferentes. Este resultado corresponde a dos simulaciones realizadas usando los mismos parámetros estructurales que en la figura 5.3 y dos conjuntos distintos de parámetros dependientes del patógeno.

## Parte II

# Ecología de las poblaciones de linfocitos T CD8+



## Capítulo 6

# Sistemas depredador–presa en poblaciones celulares elásticas

*“La mathématique est l’art de donner le même nom à des choses différentes.”*

Poincaré. *Science et Méthode*.

El sistema inmunológico es único en cuanto a su estructura y organización. A pesar de que su talla es comparable a la del hígado o el cerebro, la mayoría de las células que lo integran no se agrupan formando órganos o estructuras definidas, sino que circulan continuamente por el organismo llevando una vida independiente más parecida a la de los seres unicelulares que a la de las células típicas de otros sistemas.

Las células inmunitarias se encuentran habitualmente en un estado latente y sólo se activan ante la presencia de una amenaza para el individuo. En el caso de las células T CD8+, la activación está acompañada de una proliferación masiva (expansión clonal), necesaria para compensar las elevadas tasas de crecimiento de la mayoría de los microorganismos patógenos. En pocos días los linfocitos activados pueden dividirse hasta 15 y 20 veces, lo que provoca un aumento de la población que puede llegar a alcanzar del orden de  $10^6$  células. Una vez eliminado el patógeno, las células T activadas desaparecen (contracción clonal) y la población de linfocitos recupera su valor inicial. Sólo algunas células (entre el 5 y el 10 % del tamaño máximo alcanzado en la expansión) sobreviven a la contracción clonal en forma de células de memoria. Estas células se desactivan y revierten a un estado similar al de las células naïve, proporcionando al orga-

nismo la capacidad de organizar una respuesta inmunológica ante una eventual reinfección por el mismo agente (ver sección 2.3)

## 6.1. Modelos depredador–presa clásicos en inmunología

El hecho de que el sistema inmunitario esté constituido por poblaciones muy cambiantes de células individuales ha propiciado la aplicación en el campo de la inmunología de teorías y modelos matemáticos desarrollados inicialmente en el ámbito de la dinámica de poblaciones en ecología.

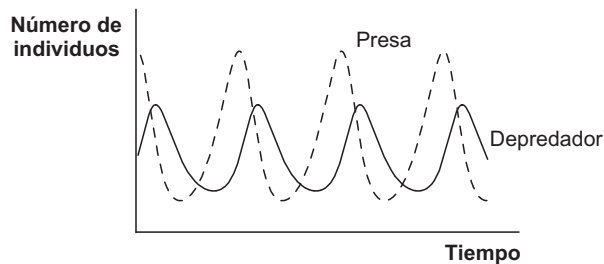
En particular, las analogías célula T–depredador y patógeno–presa han llevado al uso del modelo depredador–presa de Lotka–Volterra [208–210] para el estudio de la dinámica de la expansión–contracción clonal [211–216]. El modelo de Lotka–Volterra describe la dinámica del depredador y la presa mediante el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \dot{x}(t) = -ax(t) + bx(t)y(t) \\ \dot{y}(t) = \alpha y(t) - \beta x(t)y(t), \end{cases} \quad (6.1)$$

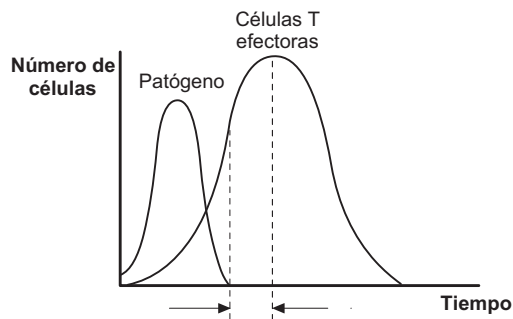
donde  $x(t)$  e  $y(t)$  denotan las poblaciones del depredador y la presa respectivamente, y  $a$ ,  $b$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son parámetros positivos.

Según este modelo, en ausencia del depredador, la población de la presa puede crecer exponencialmente con una tasa de crecimiento constante. La interacción entre las dos poblaciones lleva a un crecimiento en la población del depredador a costa de una reducción en el número de presas, de modo que cuando éstas desaparecen, el número de depredadores decae exponencialmente. A primera vista, este comportamiento es semejante al observado en las interacciones entre los linfocitos T y el patógeno: el contacto con el agente infeccioso desencadena la expansión clonal, mientras que la desaparición del antígeno que ha provocado la activación de las células T determina el inicio de la contracción clonal. El modelo de Lotka–Volterra predice una disminución del número de células T a medida que progresa la eliminación del antígeno, disminución que a su vez propicia la recuperación del patógeno, dando lugar al comportamiento cíclico característico de los sistemas depredador–presa [210] (figura 6.2).

Sin embargo, ésta no es la dinámica habitual de la respuesta inmunitaria. Evidencias empíricas recientes sugieren, por el contrario, que las células T continúan dividiéndose incluso después de la eliminación total del agente infeccioso [217, 218] (ver figura 2.5). La proliferación de las células T en ausencia de antígeno implica que el modelo Lotka–Volterra no proporciona una explicación satisfactoria del inicio de la contracción clonal [207, 219].



**Figura 6.1:** Comportamiento característico de los sistemas depredador-presa descritos por el modelo de Lotka–Volterra.



**Figura 6.2:** La eliminación del antígeno no provoca el inicio de la contracción clonal, sino que la población de linfocitos T sigue proliferando independientemente de la presencia del patógeno.

El hecho de que las células T sigan proliferando cuando la cantidad de antígeno disminuye tiene una interpretación funcional sencilla. La respuesta inmunitaria provoca la reducción del número de células patógenas presentes en el organismo. A medida que el agente infeccioso desaparece, son necesarias más células T para aumentar la probabilidad de encuentro con el patógeno y conseguir así completar su neutralización. Dado que los agentes infecciosos son capaces de crecer a tasas muy elevadas, incluso una pequeña cantidad residual de los mismos supone un riesgo potencial de reinfección, con lo que retrasar la contracción clonal, haciéndola independiente de la falta de contacto con el antígeno reduce la probabilidad de una recuperación del patógeno, aumentando así la eficacia de la respuesta inmunitaria.

Cuando se hace énfasis en el objetivo o en la función colectiva de las células T se ponen de manifiesto las limitaciones de los modelos de ecología de poblaciones clásicos en el estudio del sistema inmunitario. El concepto de población ecológica se basa únicamente en la coexistencia en el espacio de individuos de la misma especie. De hecho, la analogía entre células inmunitarias e individuos

de una población ecológica se apoya exclusivamente en el hecho de que las células inmunológicas llevan una existencia independiente dentro del organismo. Sin embargo, hay diferencias evidentes entre las poblaciones celulares y las poblaciones ecológicas: todos los linfocitos T comparten la misma información genética (algo que no ocurre normalmente en las poblaciones ecológicas) y no se limitan a coexistir en el espacio (en este caso el organismo) interaccionando entre ellos y con el ambiente, sino que coordinan su funcionamiento con un objetivo común. Por ejemplo, el suicidio de las células efectoras tras la neutralización del patógeno tiene sentido en el contexto de la respuesta inmunitaria pero evidentemente no es un comportamiento habitual en los individuos de las poblaciones ecológicas.

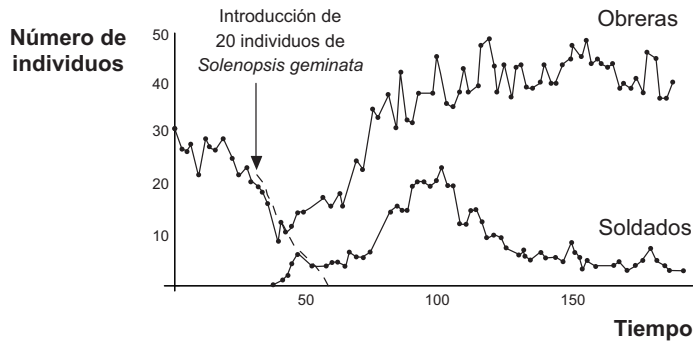
## 6.2. Células T y hormigas. Sistemas elásticos

Si tenemos en cuenta que el destino de cada célula se subordina al objetivo global, los linfocitos T se parecen más a una colonia de insectos sociales que a una población ecológica. Igual que ocurre con el sistema de las células T, una colonia despliega un comportamiento global eficiente, adaptativo y robusto que resulta de decisiones tomadas continuamente por cada individuo en función de la información (necesariamente local) que recibe del ambiente y de las señales que le llegan de otros individuos.

Las similitudes entre el sistema de las células T y las colonias de hormigas se hace especialmente patente cuando analizamos ambas en relación a una actividad equivalente, como es la defensa del nido. Esta es la descripción que Hölldobler y Wilson [220] hacen del comportamiento defensivo en *Pheidole dentata*:

“Durante la actividad normal de la colonia, las hormigas obreras patrullan continuamente alrededor del nido en busca, sobre todo, de alimento, pero también atentas a la posible presencia de enemigos. La detección de un sólo individuo potencialmente peligroso es suficiente para desencadenar una reacción violenta. La obrera vuelve rápidamente al nido, dejando en el camino una marca olorosa que atrae a otras hormigas, obreras y soldados que normalmente están inactivos y las conduce hacia el agresor. Las obreras recién llegadas pueden a su vez volver al nido y reclutar más refuerzos, mientras que los soldados se encargan de combatir al intruso, tarea para la que están especialmente preparados: su cabeza es extraordinariamente grande y está dotada de mandíbulas afiladas con las que hacen literalmente pedazos los cuerpos de los insectos enemigos. La victoria completa no calma la excitación de los soldados tras la batalla, éstos no regresan inmediatamente al nido, sino que pueden quedarse una o dos horas, merodeando a la busca de otros intrusos” (figura 6.3).

En la respuesta defensiva de *Pheidole dentata* podemos identificar una expan-



**Figura 6.3:** Comportamiento defensivo de *Pheidole dentata*. La presencia de individuos de otra especie (línea discontinua) es interpretada como una agresión a la colonia. Los soldados que han sido reclutados durante la respuesta defensiva vuelven al nido una vez neutralizada la amenaza, mientras que un grupo de obreras permanece en lugar de la agresión. Fuente: referencia [220]

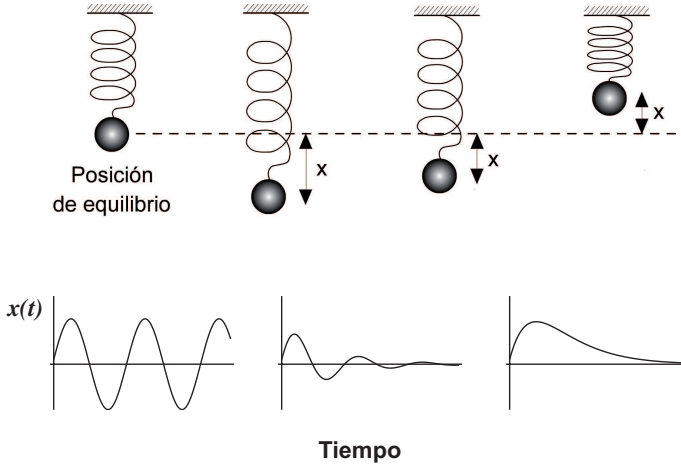
sión y una contracción de los soldados y una memoria de obreras que permanece en el lugar de la agresión, atentas a una nueva agresión. Igual que en el caso de las células T, la desaparición de la amenaza no supone inmediatamente la vuelta al nido de los soldados, sino que hay un retraso entre la eliminación del agente causante de la respuesta y el inicio de la contracción.

La función defensiva (tanto del organismo como de la colonia) no termina con la neutralización del agente agresor, sino que los linfocitos T y las hormigas soldado deben además recuperar la situación previa a la respuesta. De no ser así, cada episodio de infección supondría la acumulación en el organismo de millones de células que ya no son necesarias, mientras que cada episodio de defensa supondría la pérdida de individuos que siguen siendo útiles para la colonia. Esta observación permite describir ambos sistemas defensivos como estructuras elásticas: se deforman debido a la acción de perturbaciones externas y recuperan su forma original cuando dichas perturbaciones desaparecen.

La elasticidad es una propiedad exclusivamente macroscópica, ya que es el sistema en su conjunto y no cada agente individual (célula T u hormiga) el que puede describirse como elástico. Por otra parte, la elasticidad emerge del comportamiento coordinado de los agentes individuales, comportamiento que es muy diferente en hormigas y en células T: las hormigas no se dividen, sino que acuden al nido para reclutar nuevos individuos y una vez neutralizada la agresión no se suicidan, sino que vuelven al nido para ocuparse de otras tareas.

Cuando se observan desde la perspectiva de su función, ambos sistemas admiten una misma descripción macroscópica independientemente de las diferencias en los detalles microscópicos del funcionamiento de los agentes individuales. Este hecho sugiere la posibilidad de aislar esta función y explicarla sin necesidad





**Figura 6.4:** El muelle es el ejemplo clásico de sistema elástico. Comportamientos descritos por la ecuación 6.2 para distintos valores de los parámetros en ausencia de fuerzas externas.

de apoyarse explícitamente en los mecanismos microscópicos que la originan.

En los capítulos siguientes asumiremos que las poblaciones de linfocitos son un caso particular de una clase muy general de objetos (los cuerpos elásticos), lo que nos permitirá analizarlas empleando la teoría y las herramientas desarrollados en el ámbito de la física para el estudio de este tipo de sistemas.

Con el fin de estudiar las poblaciones de linfocitos como sistemas elásticos, tomaremos como modelo de cuerpo mecánico elástico el muelle (figura 6.4), cuyo comportamiento puede describirse mediante la siguiente ecuación diferencial:

$$m\ddot{x}(t) = -c\dot{x}(t) - kx(t) + F(t) \quad (6.2)$$

donde  $m$ ,  $c$  y  $k$  son parámetros positivos y  $F(t)$  es una fuerza externa.

En la ecuación anterior,  $x(t)$  mide la distancia del sistema de su posición de equilibrio en el instante  $t$  (figura 6.4),  $c\dot{x}(t)$  es la fuerza de rozamiento y  $-kx(t)$  es la fuerza elástica.<sup>1</sup>

Para explotar la analogía del sistema de las células T CD8+ con un sistema mecánico como el muelle es necesario considerar, no sólo el aspecto “cinemático” de la población de linfocitos, es decir, su evolución en el tiempo, sino también en las causas o “fuerzas” responsables de esta evolución.

<sup>1</sup>Esta expresión de la fuerza elástica se conoce como ley de Hooke y fue enunciada por Robert Hooke, quien también acuñó el término de **célula** en 1665 en su obra *Micrographia*

### 6.3. Hacia una mecánica de poblaciones de los linfocitos T. La fuerza antigénica

A diferencia de lo que ocurre en la mecánica clásica, la noción de “fuerza” carece de una definición rigurosa en inmunología. Sin embargo, a pesar de no estar bien definidos, los conceptos de **intensidad** o **fuerza de la estimulación antigénica** se utilizan a menudo en la literatura [221, 222]. Se ha propuesto, por ejemplo, que la magnitud de la fuerza de estimulación que recibe cada linfocito determina su destino individual, tanto en lo que se refiere a su actividad efectora [223], como a su capacidad para sobrevivir a la contracción clonal y convertirse en célula de memoria [169, 224]. La fuerza de la estimulación antigénica se ha vinculado también con comportamientos colectivos de las poblaciones de linfocitos, como la magnitud y la duración la expansión clonal [225].

Las diferencias en la intensidad de la fuerza de la estimulación antigénica entre linfocitos podrían originarse en la sinapsis inmunológica (ver sección 2.2) [168, 170] y serían una consecuencia de la duración de la sinapsis [226–229] o de diferencias en la afinidad entre el complejo MHC–péptido y el receptor TCR del linfocito [230–233].

De hecho, se ha observado que diferencias en un único aminoácido del antígeno puede dar lugar grandes diferencias en la vida media de la interacción entre el TCR y el complejo péptido–MHC [227] y pueden significar incluso la diferencia entre la activación y la no activación del linfocito [6].

Sin entrar su origen microscópico, vamos a proponer una definición operativa de **fuerza antigénica** que permite modelizar el comportamiento macroscópico de la población de linfocitos T durante la expansión y la contracción clonal, vinculándolo explícitamente con la causa de este comportamiento, que es la presencia del patógeno. Para ello consideraremos que el tamaño de la población de linfocitos está descrito por una variable continua que denotaremos por  $x(t)$ . Siguiendo la analogía con la mecánica clásica denominaremos **aceleración de la población** a la segunda derivada de esta variable continua y definiremos como **fuerza** a cualquier causa de cambio en la aceleración.

Denominaremos **población celular elástica** a cualquier población de células cuya evolución en el tiempo puede modelizarse mediante las ecuaciones:

$$\begin{cases} \ddot{x}(t) + c\dot{x}(t) + kx(t) = F(t) \\ \dot{F}(t) = f(x, F) \end{cases} \quad (6.3)$$

donde  $x(t)$  es el tamaño de la población en el instante  $t$  y  $F(t)$  es una fuerza externa. Por analogía con los sistemas mecánicos, definimos  $c \geq 0$  y  $k > 0$  como los coeficientes de “viscosidad” y de “elasticidad” de la población respectivamente. La ecuación anterior es válida para  $x(t) \geq 0$ .

### 6.3.1. Hipótesis 7. Las poblaciones de linfocitos T CD8+ son poblaciones celulares elásticas

*Las poblaciones de linfocitos T CD8+ son poblaciones celulares elásticas y tienden a extinguirse en ausencia de fuerzas externas.*

Asumiremos que, en el caso de los linfocitos efectores, la fuerza externa está causada por la presencia del agente infeccioso:

### 6.3.2. Hipótesis 8. La presencia del patógeno actúa como una fuerza que acelera la población de linfocitos efectores

*Las señales TCR/antígeno son una fuerza externa que provoca una aceleración positiva en la población de linfocitos T CD8+ efectores. La magnitud de la fuerza (que denominaremos **fuerza antigénica**) es proporcional a la cantidad de patógenos presentes en el organismo en cada instante.*

Dado que la fuerza antigénica es una función del número de patógenos en cada instante, un modelo del comportamiento dinámico de las células T efectoras debe tener en cuenta explícitamente la evolución de las células patógenas en el tiempo. Para modelizar la dinámica del patógeno emplearemos la misma estrategia que en la primera parte de este trabajo (ver la Hipótesis 5, página 53). Prescindiremos de los detalles microscópicos de su evolución y utilizaremos un modelo que describe bien el comportamiento observado durante la respuesta inmunológica:

$$\dot{y}(t) = \alpha y(t) - \beta x(t)y(t) \quad (6.4)$$

donde  $y(t)$  y  $x(t)$  son el número de patógenos y de linfocitos T respectivamente en el instante  $t$  y  $\alpha$  y  $\beta$  son parámetros positivos.

## 6.4. Modelo 3. Los linfocitos T como un sistema elástico: expansión y contracción clonal

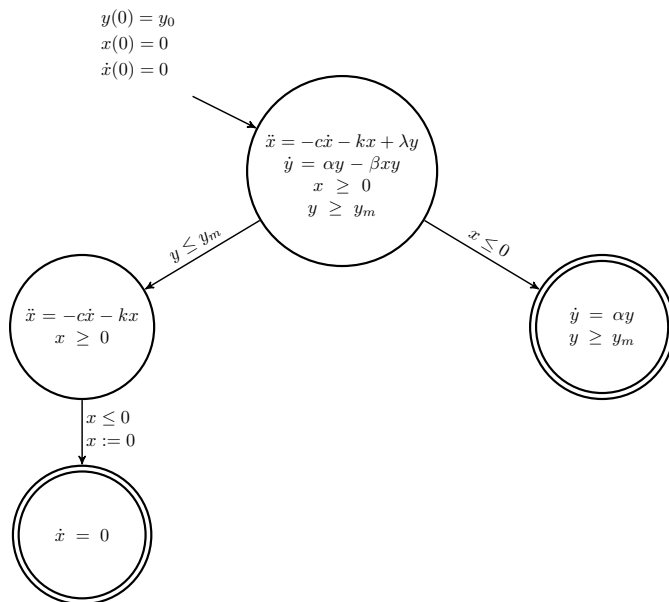
La hipótesis de división asimétrica (ver apartado 3.6, página 38) nos permite considerar las células susceptibles y resistentes a la apoptosis como poblaciones independientes. En este capítulo consideraremos únicamente la expansión y contracción clonal de las células que mueren durante la contracción clonal, a las que nos referiremos a partir de ahora como células efectoras, mientras que el problema de las células resistentes a la apoptosis será abordado en el capítulo siguiente.

Asumiendo que las poblaciones de linfocitos T CD8+ efectores son un sistema elástico sometido a la fuerza ejercida por el antígeno, describiremos su evolución en el tiempo mediante el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

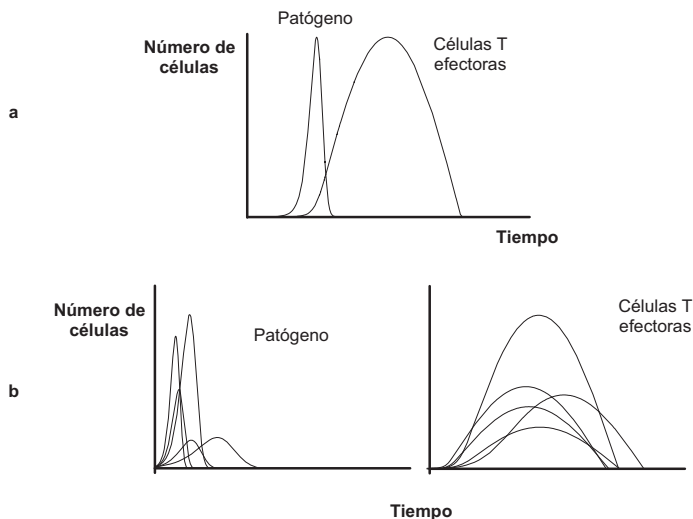
$$\begin{cases} \ddot{x}(t) = -c\dot{x}(t) - kx(t) + \lambda y(t) \\ \dot{y}(t) = \alpha y(t) - \beta x(t)y(t) \\ x(0) = 0 \\ \dot{x}(0) = 0 \\ y(0) = y_0 \end{cases} \quad (6.5)$$

donde  $y(t)$  y  $x(t)$  son el número de patógenos y de linfocitos T respectivamente en el instante  $t$ ,  $y_0$  es la dosis inicial de patógenos y  $c$ ,  $k$ ,  $\lambda$ ,  $\alpha$  y  $\beta$  son parámetros positivos.

Hemos asumido que la magnitud de la fuerza antigénica en cada instante es proporcional a la cantidad de patógenos. En particular, la constante de proporcionalidad  $\lambda$  reúne la información sobre la afinidad, la duración de la interacción, y todos aquellos aspectos de la sinapsis que modulan la proliferación de los linfocitos T activados como consecuencia de la interacción entre el TCR y el antígeno.



**Figura 6.5:** Diagrama híbrido del modelo poblacional de expansión y contracción clonal de los linfocitos T efectores durante la respuesta inmunitaria.



**Figura 6.6:** a) Simulaciones numéricas del Modelo 3. El modelo reproduce la expansión y la contracción clonal de las células T, así como el comportamiento del patógeno durante la respuesta inmunitaria. El sistema recupera su equilibrio inicial una vez que desaparece el patógeno, aunque se observa un retraso entre esta desaparición y la contracción clonal. b) Simulaciones numéricas del Modelo 3 para distintos valores de los parámetros (los resultados de las simulaciones se muestran a la misma escala). El comportamiento cualitativo se repite, aunque la magnitud de la expansión clonal, así como el momento en el que se alcanza el máximo de la población de linfocitos efectores es variable dependiendo del valor concreto de los parámetros.

La ecuación 6.5 sólo es válida para  $x(t) \geq 0$  y para  $y(t) \leq y_m$ , siendo  $y_m$  un parámetro que representa la cantidad mínima de patógenos que sigue siendo viable para proliferar. Asumiremos que por debajo de este umbral el patógeno ha sido neutralizado y la infección está controlada. Alternativamente, si la población de linfocitos desaparece (condición  $x(t) \geq 0$ ) la infección prosigue su curso, de modo que el patógeno puede crecer con una tasa de crecimiento  $\alpha$ . Estas condiciones pueden expresarse formalmente utilizando el marco teórico de los autómatas híbridos en la figura 6.5. Para simplificar la notación denominaremos Modelo 3 tanto al autómata híbrido como a la ecuación 6.5.

## 6.5. El origen de las infecciones crónicas

Los parámetros del Modelo 3 pueden escogerse de modo que éste reproduzca los detalles cualitativos más relevantes de la respuesta de las poblaciones de células T CD8+ durante una infección aguda (ver figura 6.6). Sin embargo,

el Modelo 3 también da lugar a comportamientos alternativos a los que se observan en las infecciones agudas y que sugieren posibles vías de escape de los patógenos a la respuesta inmunitaria de los linfocitos T. Para ilustrar este hecho, consideremos la siguiente expresión adimensional del Modelo 3:

$$\begin{cases} \ddot{x}(t) = -\tilde{c}\dot{x}(t) - x(t) + y(t) \\ \dot{y}(t) = \tilde{\alpha}y(t) - \tilde{\beta}x(t)y(t) \\ x(0) = 0 \\ \dot{x}(0) = 0 \\ y(0) = 1 \end{cases} \quad (6.6)$$

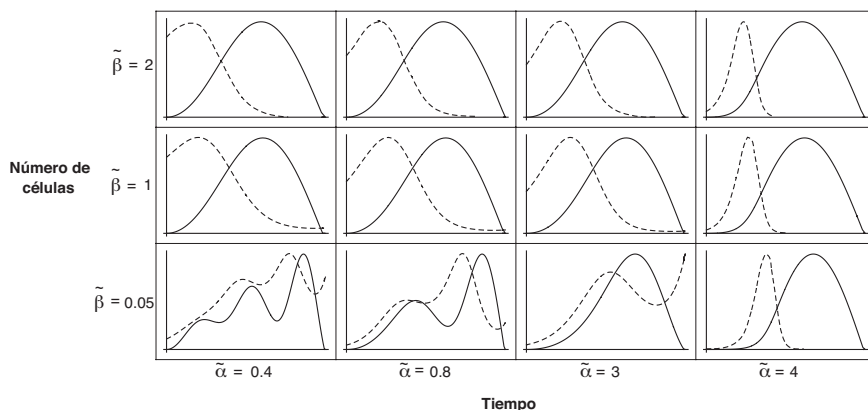
con

$$\tilde{c} = \frac{c}{\sqrt{k}}, \quad \tilde{\alpha} = \frac{\alpha}{\sqrt{k}} \quad \text{y} \quad \tilde{\beta} = \beta \frac{\lambda y_0}{k\sqrt{k}}$$

Las ecuaciones 6.6 permiten explorar el rango de comportamientos del Modelo 3 variando sólo 3 parámetros:  $\tilde{\alpha}$  y  $\tilde{\beta}$ , que son proporcionales a la tasas de crecimiento y de eliminación del antígeno por parte de las células T respectivamente y  $\tilde{c}$ , que depende de los parámetros de elasticidad de la población de linfocitos.

En la figura 6.5 se muestran los resultados de algunas simulaciones numéricas de las ecuaciones 6.6 para  $\tilde{c} = 0$  y distintos valores de  $\tilde{\alpha}$  y  $\tilde{\beta}$ . Se observa que cuando la tasa de crecimiento y la tasa de eliminación del patógeno están por encima de un umbral, la respuesta de las células T propicia la erradicación del patógeno. Sin embargo, para valores más pequeños de estos parámetros, la población de células T puede extinguirse antes de que tenga lugar la desaparición del antígeno.

Estos resultados sugieren dos posibles estrategias que permitirían a los patógenos evitar la acción de los linfocitos T efectoros, dando lugar a infecciones crónicas. La primera vía de escape es evidente y consiste en reducir la efectividad de la respuesta, disminuyendo la tasa de eliminación de células patógenas por parte del sistema inmunitario (lo que equivale a disminuir el valor del parámetro  $\tilde{\beta}$  en las ecuaciones 6.6). De hecho, muchos microorganismos patógenos recurren a estrategias de este tipo [234]. Algunos virus, por ejemplo, son capaces de manipular la maquinaria celular sintetizando proteínas anti-apoptóticas, lo que permite que el virus complete su ciclo antes de la muerte de la célula [149]. Algunos herpesvirus, por su parte, se ocultan en tejidos como el sistema nervioso central, a los que no llegan las células T [151], mientras que otros producen moléculas de evasión, que pueden saturar los receptores TCR, reduciendo la probabilidad de la interacción entre una célula T efectora y una célula infectada con el virus. Esta estrategia es utilizada también por el virus de la hepatitis B (HBV), que produce partículas subvirales a una tasa entre  $10^4$  y  $10^6$  veces superior que la producción de virus enteros [61].



**Figura 6.7:** Simulaciones numéricas de las ecuaciones 6.6 para  $\tilde{c} = 0$  y distintos valores de  $\tilde{\alpha}$  y  $\tilde{\beta}$ . Para valores grandes de la tasa de crecimiento o de eliminación del patógeno ( $\tilde{\alpha} = 4$  y  $\tilde{\beta} = 2$  respectivamente), la expansión y contracción clonal de los linfocitos efectores (línea continua) supone la eliminación total del patógeno (línea discontinua). Sin embargo, cuando uno de estos dos parámetros es más pequeño, la población de linfocitos T efectores desaparece antes que el patógeno.

Sin embargo, el Modelo 3 también sugiere una estrategia de escape menos evidente: los microorganismos patógenos podrían evitar la respuesta de las células T disminuyendo su tasa de crecimiento (lo que se equivale a reducir el parámetro  $\tilde{\alpha}$  en las ecuaciones 6.6). De hecho, estudios recientes han demostrado que patógenos como el citomegalovirus (CMV), el virus de Epstein–Barr (EBV) o el virus de la hepatitis B (HBV) podrían emplear esta estrategia [235, 236]. Por ejemplo, mientras que algunos virus duplican su población cada 10 horas, como es el caso del virus de la hepatitis C (HCV) [237, 238], el HBV, que provoca infecciones crónicas, lo hace sólo cada dos o tres días [239, 240]. Algunos protozoos han llegado incluso a desarrollar mecanismos de muerte celular programada, lo que les permite controlar su densidad en los tejidos del huésped [241]. A pesar de que aún no se ha propuesto ninguna explicación satisfactoria a la cuestión de cómo podrían ayudar a escapar de la respuesta inmunitaria [236], las bajas tasas de crecimiento exhibidas por algunos patógenos empiezan a considerarse explícitamente entre los mecanismos de evasión del sistema inmunológico en la literatura [242, 243].

De acuerdo con el Modelo 3, las consecuencias de una tasa de crecimiento reducida son similares a las de una baja tasa de eliminación del patógeno: aunque el sistema de las células T puede activarse e iniciar la expansión clonal, la fuerza antigénica no es suficiente para que la expansión alcance un tamaño crítico capaz de acabar con el patógeno. En consecuencia, la contracción termina antes de que el patógeno haya sido totalmente eliminado, lo que implica que

éste ha escapado con éxito de la acción de las células T.

En este trabajo no vamos a considerar los detalles respuesta inmunitaria ante infecciones crónicas. Sin embargo, a partir de la explicación que proporciona el Modelo 3 sobre el origen de estas infecciones, vamos a proponer un mecanismo que permitiría a los linfocitos T discriminar entre las células sanas del organismo y las células que han resultado infectadas o que han desarrollado capacidades tumorales. En condiciones normales, las células T atacan selectivamente a determinados antígenos al mismo tiempo que respetan otros, fenómeno que se conoce como **tolerancia** y que vamos a revisar brevemente en la sección siguiente.

## 6.6. La tolerancia, la autoinmunidad y la inmunovigilancia

Cada una de las células dendríticas que llegan a un ganglio linfático desde un tejido infectado está cargada con miles de péptidos, muchos de los cuales provienen de las células del huésped y no están relacionados con la infección [226]. A pesar de ello, la sinapsis inmunológica sólo provoca la activación de clones de linfocitos T que son afines por los antígenos del patógeno y no por antígenos propios (llamados también **auto-antígenos**). Se han propuesto dos mecanismos que explican en parte la tolerancia a auto-antígenos, y que se conocen como **tolerancia central** y **tolerancia periférica** [244]. La tolerancia central consiste en la eliminación en el timo de aquellas células T naïve inmaduras cuyo TCR es afín por algún auto-antígeno. Se ha identificado una proteína, conocida como **regulador autoinmune** o **AIRE** (Autoimmune Regulator) que provoca la expresión en el timo de genes que codifican para una gran variedad de proteínas que están presentes en los tejidos del cuerpo [245–247]. De este modo se genera una amplia muestra de auto-antígenos, lo que permite seleccionar a aquellos clones de linfocitos que son susceptibles de desencadenar una respuesta agresiva contra antígenos que forman parte de las células normales del organismo. Estos linfocitos mueren por apoptosis antes de abandonar el timo, en un proceso denominado **selección negativa** [248], lo que evita que puedan desencadenar una respuesta inmunitaria contra proteínas presentes en algún tejido del organismo.

La tolerancia central, sin embargo, no garantiza la eliminación de todos los clones potencialmente autoreactivos [249, 250]. Por esta razón existe un mecanismo complementario que depende de la participación de una subpoblación particular de células T, denominadas **reguladoras** [251, 252].

Las células T reguladoras constituyen el 2 % de los linfocitos T que circulan entre los órganos linfoides secundarios [251]. Aunque todavía no se comprenden



los mecanismos responsables de la aparición y el funcionamiento de las células T reguladoras, se sabe que éstas proporcionan un mecanismo de seguridad que minimiza el riesgo y las consecuencias de la activación de clones autoreactivos. Por una parte, se ha propuesto que la aparición de estos linfocitos podría estar relacionado con la selección negativa [253], de modo que la intensidad de la interacción entre el TCR y el autoantígeno presentado por las células dendríticas en el timo determinaría la muerte del linfocito o su diferenciación en célula T reguladora [254–256].

En lo que respecta a su función, se ha observado que las células T reguladoras deben activarse para generar tolerancia, igual que los linfocitos T helper y citotóxicos [257]. Una vez activadas podrían monopolizar la interacción con las células dendríticas, dificultando la activación de otras células T naïve específicas para el mismo antígeno [251].

Por su parte, las células dendríticas también juegan un papel activo en la tolerancia a determinados antígenos presentes en bacterias comensales. El reconocimiento de estructuras características de estas bacterias, llamadas **patrones moleculares asociados a microorganismos** o **MAMP** (Microbe-Associated Molecular Pattern) modifica el comportamiento de las células dendríticas, que evitan la activación de las células T específicas para estos antígenos [258].

La selección negativa de los clones auto-reactivos, así como la acción de las células T reguladoras o de las células dendríticas explican, por tanto, la tolerancia de las células T a antígenos, tanto propios como presentes en bacterias simbióticas. Sin embargo, la comprensión de la tolerancia está lejos de ser perfecta en la actualidad.

Por una parte, la eliminación en el proceso de selección negativa de los clones capaces de atacar estructuras sanas del organismo es incompleta, como se deduce de la existencia de enfermedades autoinmunes, como la diabetes o el lupus, causadas por una respuesta agresiva de los linfocitos T a antígenos propios. Actualmente no hay ninguna teoría satisfactoria que explique por qué los clones capaces de provocar estas enfermedades escapan sistemáticamente al control de la selección negativa.

Por otra parte, hay razones para que no todos los clones capaces de reconocer auto-antígenos desaparezcan como consecuencia de la selección negativa. En efecto, se ha observado que las células T son capaces de detectar y atacar células propias del organismo que han desarrollado capacidades tumorales, fenómeno conocido como inmunovigilancia [259, 260]. Si los clones capaces de identificar estas células fuesen eliminados en la selección clonal, el sistema inmunitario perdería la capacidad de reconocer y neutralizar a las células tumorales.

A partir del Modelo 3, vamos a formular una hipótesis sobre el origen de la tolerancia que completa la teoría de la selección negativa y explica el fenómeno

de la inmunovigilancia y la existencia de problemas autoinmunes:

### 6.6.1. Conjetura del límite de velocidad en el origen de la tolerancia inmunológica. Redefinición del yo inmunológico

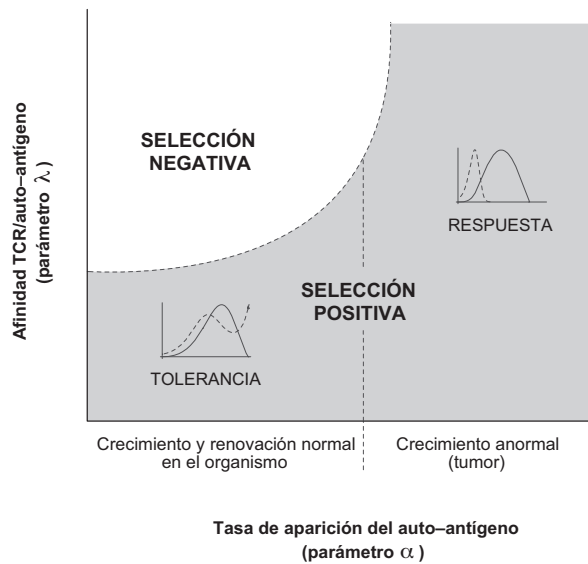
*La tolerancia a un antígeno por parte de las células T está determinada por el comportamiento dinámico del antígeno (parámetros  $\tilde{\alpha}$  y  $\tilde{\beta}$  en las ecuaciones 6.6).*

La teoría de la selección negativa asume que el “yo inmunológico” es una propiedad genética del individuo y que su reconocimiento recae en las células T individuales, de modo que aquellos linfocitos que reconocen proteínas propias son eliminados en el timo. Las células dendríticas también participan en la definición del yo inmunológico, ya que pueden modular la activación de las células T naïve e inhibir la respuesta potencial a estructuras presentes en bacterias simbióticas, induciendo así la tolerancia a estructuras externas al patrimonio genético del individuo.

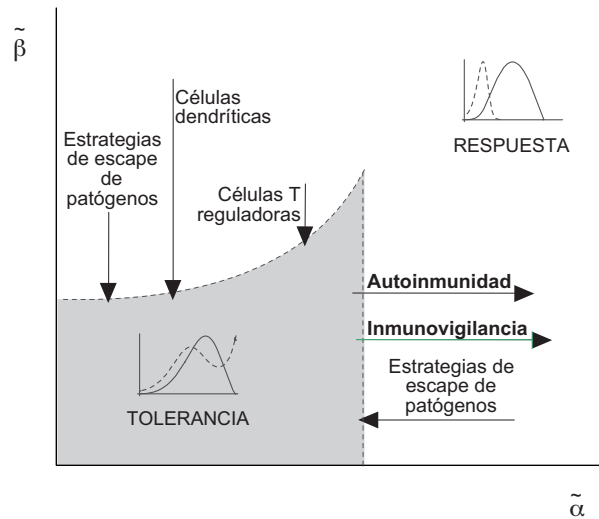
De acuerdo con la conjetura del límite de velocidad, junto a este mecanismo de tolerancia, que radica en los linfocitos individuales funciona otro mecanismo colectivo, que permite a los clones de células T discriminar entre distintos patrones temporales de aparición del antígeno, respondiendo sólo ante aquellas estructuras que presentan tasas de aparición por encima de un umbral.

Este umbral puede ser diferente en clones distintos y probablemente podría establecerse en el proceso de selección negativa: los clones que pueden responder a antígenos cuyas tasas de aparición se corresponden con el crecimiento y renovación normales del individuo serían eliminados, mientras que los clones capaces de atacar sólo a aquellas estructuras que aparecen a tasas anormales sobrevivirían al proceso de selección negativa. En términos del Modelo 3, la interacción entre el TCR de un linfocito y un antígeno se expresa en el parámetro  $\lambda$ , cuyo valor es mayor cuanto más grande es la afinidad entre el receptor y el antígeno. Por tanto, altas afinidades TCR/antígeno dan lugar a una respuesta por parte de los linfocitos T a cualquier célula que presenta el antígeno, independientemente de su tasa de aparición (parámetro  $\alpha$  del Modelo 3) (ver figura 6.5).

La supervivencia de los linfocitos con una alta afinidad por auto-antígenos implica por tanto la posibilidad de una respuesta agresiva contra estructuras normales del organismo y deben ser eliminados en la selección negativa. La situación es distinta para clones cuyo TCR es capaz de reconocer antígenos propios con baja afinidad. En este caso, el Modelo 3 predice que incluso si estos clones se activan, no van a causar una respuesta agresiva a auto-antígenos, siempre que estos aparezcan a una velocidad normal. Sólo si estos antígenos



**Figura 6.8:** Interpretación del proceso de selección negativa de acuerdo con el Modelo 3. Los clones de linfocitos T capaces de reconocer antígenos propios con alta afinidad son eliminados en el proceso de selección negativa, de modo que no pueden dar lugar a respuestas agresivas contra células normales del organismo. Los clones que sobreviven a la selección negativa sólo atacan estructuras propias cuando éstas proliferan a tasas superiores a las que corresponden a la renovación normal de los tejidos.



**Figura 6.9:** Definición del yo inmunológico (zona de tolerancia a antígenos) en función de los parámetros dinámicos del antígeno.

empiezan a proliferar a tasas mayores, por ejemplo si aparecen en células cancerígenas, son eliminados por las células T, lo que explicaría el fenómeno de la inmunovigilancia.

Para cada antígeno existe por tanto una región de tolerancia, definida por la afinidad entre el TCR de los clones capaces de reconocer el antígeno, y la tasa de producción del antígeno, de modo que el sistema de las células T considera como “propio” cualquier antígeno que está en la región de tolerancia y respondería a los antígenos, extraños al organismo o no, que se encuentran fuera de dicha región (figura 6.9).

La conjetura del límite de velocidad permite interpretar una serie de fenómenos relacionados con la tolerancia, la autoinmunidad y la inmunovigilancia:

**Estrategias de escape de patógenos** Como hemos visto más arriba, los patógenos pueden escapar del sistema inmunitario limitando, escondiéndose en tejidos a los que no llegan las células T o produciendo proteínas que engañan a los linfocitos, lo que equivale a reducir la tasa de eliminación de las células del patógeno (parámetro  $\beta$  en el Modelo 3). Otros patógenos, sin embargo, han elegido limitar su tasa de proliferación (parámetro  $\alpha$ ), lo que desde la perspectiva del Modelo 3 puede interpretarse como un intento de alcanzar la región de tolerancia del sistema de las células T.

**Papel de las células dendríticas en la tolerancia** Las células dendríticas modulan la activación de los linfocitos T, y por tanto pueden promover la

tolerancia a antígenos presentes en bacterias simbióticas, modificando la fuerza antigénica percibida por el TCR en las células naïve, lo que equivale a bajar el valor del parámetro  $\beta$  en el Modelo 3.

**Papel de las células T reguladoras en la tolerancia a auto–antígenos** Las células T reguladoras podrían competir con las células efectoras por el antígeno. De este modo, algunas de las células portadoras del antígeno escaparían a la acción de los linfocitos efectores, lo que equivale a una reducción del parámetro  $\tilde{\beta}$  en las ecuaciones 6.6.

**El origen de la autoinmunidad y la inmunovigilancia** Como hemos visto más arriba, los clones de células T con alta afinidad por auto–antígenos serían eliminados en el proceso de la selección negativa. Los clones con baja afinidad, sin embargo, podrían llegar a activarse, pero no causarían una respuesta agresiva contra auto–antígenos presentes en células con una tasa de crecimiento normal.

Faltaría por explicar por qué en ocasiones las células T se activan y originan una respuesta agresiva contra estructuras propias del organismo. De acuerdo con la conjetura del límite de velocidad, este hecho podría ser una consecuencia de un cambio en la tasa de crecimiento de las células portadoras de un auto–antígeno. Esto es lo que ocurre, por ejemplo, con muchos antígenos tumorales [259], lo que explicaría el fenómeno de la inmunovigilancia.

Por otra parte, todos los tejidos se encuentran en un estado que podríamos definir como de flujo continuo, con tasas de renovación variables de unos tejidos a otros [261]. Se ha observado además, que las células que mueren por apoptosis podrían inducir la proliferación de células vecinas para mantener así la homeostasis normal de los tejidos, fenómeno conocido como **proliferación compensatoria** (compensatory proliferation) [262, 263]. De acuerdo con la conjetura del límite de velocidad, las células T no responden a las células durante la renovación normal de los tejidos. Sin embargo, si células propias comenzasen a experimentar una mortalidad elevada, como consecuencia, por ejemplo, de una infección, podrían empezar a proliferar rápidamente, para compensar la pérdida anormal de células. Esta proliferación, más rápida de lo habitual, podría ser suficiente para desencadenar una respuesta agresiva por parte de las células T. El aspecto dinámico del antígeno puede ser un factor tan importante a la hora de determinar la respuesta o la tolerancia por parte del sistema de las células T como su origen. Las teorías actuales sobre la tolerancia asumen implícitamente que el yo inmunológico está definido en términos genéticos, es decir, que las células T son seleccionadas para reconocer antígenos que no pertenecen a las células del organismo o a bacterias simbióticas. De acuerdo con esta hipótesis, la auto–inmunidad se interpreta como un error del sistema inmunitario, que reconoce como extrañas y ataca a estructuras que se encuentran en células sanas del organismo.

En este trabajo proponemos que la tolerancia, la auto–inmunidad y la inmu–

novigilancia son en realidad aspectos diferentes del mismo fenómeno: las células T responden a antígenos de células que superan un límite tolerado de velocidad de proliferación. Si el antígeno se encuentra en células propias, la respuesta de las células T ataca a células normales del organismo, lo que se da lugar a un problema de auto-inmunidad, mientras que si el antígeno pertenece a una célula cancerígena, la respuesta se interpreta como un fenómeno de inmunovigilancia. Al contrario, las células que proliferan “lentamente” son toleradas por el sistema de los linfocitos T, independientemente de si son sanas o están infectadas por parásitos que han desarrollado la estrategia de frenar sus tasas de proliferación. Desde este punto de vista, la auto-inmunidad no es un error del sistema inmunitario, sino más bien un error de los tejidos atacados que, por alguna razón, han superado el límite de velocidad de proliferación permitida.



## Capítulo 7

# Competencia en poblaciones celulares elásticas

*“In ecology as in other sciences, it is important to distinguish between equations, or «laws», whose justification is that they describe the observed relation between two or more variables, and those which have in addition some «microscopic» justification in terms of the known or postulated behaviour of the components of the system.”*

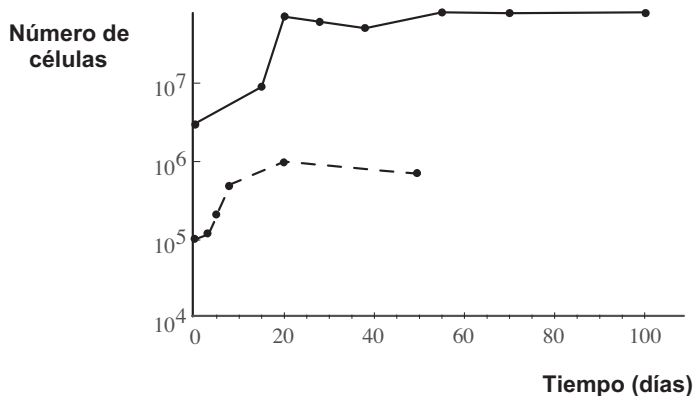
J. Maynard Smith [264]

### 7.1. Homeostasis de las células T CD8+ naïve y memoria

La aparición de nuevas células de memoria tras cada episodio de expansión y contracción clonal no suponen un aumento del número total de linfocitos del organismo. De hecho, el número de células T, tanto naïve como memoria, permanece relativamente constante a lo largo de la vida del individuo [21, 265, 266]. De alguna manera, el sistema inmunológico es capaz de percibir el número de linfocitos en cada instante y de ajustar su proliferación y su muerte cuando es necesario para mantener una población estable, fenómeno que se conoce con el nombre de **homeostasis** [267].

El mecanismo de homeostasis es tan eficaz que incluso el trasplante de varios timos a un ratón no supone un cambio en el número total de células T del indi-





**Figura 7.1:** Proliferación homeostática de los linfocitos T. Los datos corresponden a experimentos en los que se trasplantan células T naïve normales a un individuo en el que se ha eliminado previamente toda la población de linfocitos. Referencias: [267] (línea continua) y [272] (línea discontinua).

viduo [102]. Del mismo modo, si parte de la población de linfocitos desaparece (en situaciones naturales [268–271] o experimentales [267, 272, 273]), las células restantes proliferan hasta que la población recupera el tamaño original [274] (ver figura 7.1). Los linfocitos que se generan como consecuencia de la proliferación homeostática experimentan cambios fenotípicos [275, 276] pero son totalmente funcionales, es decir, pueden activarse normalmente y experimentar la expansión y la contracción clonal [102].

La capacidad de los linfocitos T CD8+ para proliferar rápidamente hace que la eficacia del sistema inmunológico adquirido no dependa tanto del número de células T que contiene (de hecho, el sistema inmunológico de un ratón es igual de eficaz que el de un elefante [277]) como de la variabilidad de TCRs disponibles [278–280]. Por eso es importante que el sistema sea capaz de mantener, no sólo el número de linfocitos sino también el número de clones a lo largo del tiempo [127]. De hecho, aunque tras la contracción clonal puede haber cambios en la composición de clones de la población de memoria (algunos clones pueden ser más frecuentes en la memoria de lo que lo eran en la población naïve [281]), el sistema inmunitario es capaz de mantener una elevada heterogeneidad durante la mayor parte de la vida del individuo.

Los mecanismos responsables de la homeostasis de los linfocitos T se desconocen, y su identificación es uno de los problemas abiertos actualmente en la inmunología [282–284]. Paradójicamente, se han descrito muchos detalles sobre los factores que determinan la supervivencia de los linfocitos T naïve y memoria individuales. Los linfocitos T naïve necesitan recibir periódicamente una citoquina, la interleuquina 7 (IL-7), producida en condiciones normales por

células no inmunitarias del ganglio linfático [285–287]. Además, interactúan de manera regular con células dendríticas portadoras de antígenos que no son lo suficientemente afines con su TCR para causar su activación, pero que proporcionan estimulación antigénica necesaria para su supervivencia [288–290]. Por su parte los linfocitos T memoria no necesitan de la interacción con células dendríticas pero sí dependen de las interleuquinas IL-7 e IL-15 [93, 291]. Cuando los linfocitos se encuentran en la sangre o en los tejidos no pueden recibir estos estímulos y sobreviven sólo 30 minutos [292]. En condiciones normales son continuamente reclutadas a los ganglios linfáticos, donde consumen citoquinas y encuentran células dendríticas que, dependiendo de la afinidad entre el TCR y los antígenos presentes en los complejos MHC de su membrana, proporcionan la estimulación antigénica que necesitan para sobrevivir o para activarse.

### 7.1.1. Modelos clásicos de competencia ecológica en inmunología

Dado que las células T naïve y memoria deben consumir interleuquinas para sobrevivir y que éstas se encuentran en cantidades limitadas en el organismo, se ha propuesto que la competencia por citoquinas es suficiente para explicar la homeostasis de las células T naïve y memoria: las poblaciones se mantienen en un tamaño constante porque sólo aquellos linfocitos que consiguen suficientes citoquinas sobreviven [289, 293]. De acuerdo con esta hipótesis se ha observado que cuando se aumenta experimentalmente la cantidad de IL-7 se produce un incremento en el número de linfocitos, tanto naïve como memoria [289, 294]. Del mismo modo, si se bloquea la producción de IL-7 en el organismo se observa una reducción en el número de linfocitos naïve y memoria [287].

La hipótesis de la competencia entre células como explicación de la homeostasis ha propiciado que conceptos y modelos desarrollados originalmente en el contexto de la dinámica de las poblaciones ecológicas hayan sido utilizados en inmunología para el estudio de los linfocitos T. Uno de los principios que se han importado directamente desde la ecología a la inmunología es la llamada **ley de Gause** o **principio de exclusión competitiva** [265, 280]. Según este principio, dos especies que compiten por un recurso no pueden coexistir [210, 295], ya que las especies más competitivas acaban causando la extinción de las especies menos competitivas. La ley de Gause está apoyada en numerosos modelos matemáticos, por ejemplo el modelo de competencia de Lotka–Volterra, descrito por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

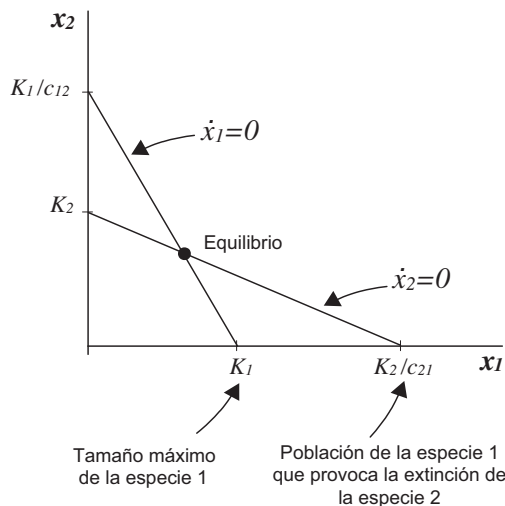
$$\dot{x}_i(t) = r_i x_i(t) \left( \frac{K_i - x_i(t)}{K_i} - \sum_{j=1}^n c_{ij} \frac{x_j(t)}{K_i} \right), \quad \text{para } i = 1, \dots, n. \quad (7.1)$$

donde  $x_i(t)$  es el tamaño de la población  $i$  en el instante  $t$ ,  $r_i$  es la tasa de

crecimiento de la especie  $i$ ,  $K_i$  es su capacidad de carga, es decir, el número de individuos de la especie  $i$  en ausencia de competición con otras especies),  $c_{ij}$  es el coeficiente de competencia, que indica la disminución en el número de individuos de la especie  $i$  debida a la presencia de individuos de la especie  $j$  y  $n$  es el número de especies que compiten.

Hay que observar que los recursos responsables de la competencia no se consideran de manera explícita en el modelo anterior, y que la competencia se traduce exclusivamente en una disminución del tamaño de la población respecto al máximo que alcanzaría cada especie en ausencia competencia.

La ley de Gause permite la coexistencia de especies que compiten por un recurso exclusivamente si sus **nichos ecológicos** son diferentes [296, 297] (ver figura 7.2). Aunque el concepto nicho ecológico de una especie carece de una definición rigurosa, se modeliza habitualmente como un espacio abstracto  $n$ -dimensional en el que cada dimensión representa un recurso necesario para la especie [210]. De acuerdo con este modelo, la competencia entre dos especies es mayor cuanto más se parecen sus necesidades, es decir, cuanto mayor es el solapamiento entre sus nichos ecológicos. Al contrario, si utilizan recursos distintos, sus nichos son diferentes y la competencia es menor.



**Figura 7.2: Principio de exclusión competitiva.** Según el modelo, el equilibrio entre dos especies sólo puede alcanzarse si  $K_1 < K_2 c_{21}$  y  $K_2 < K_1 c_{12}$ . En efecto, las rectas representadas en la figura, que corresponden a las isóclinas  $\dot{x}_1 = 0$  y  $\dot{x}_2 = 0$ , sólo se cortan si se verifica esta condición. En estas circunstancias, cada población alcanza su capacidad de carga, y por tanto deja de crecer, antes de llegar a un tamaño capaz de extinguir a la otra población. Por tanto el equilibrio es posible sólo si la competencia intraespecífica es mayor que la competencia interespecífica.

En el caso de las células T se ha empleado explícitamente el concepto de nicho ecológico para referirse a las necesidades de citoquinas para la homeostasis de las células naïve y memoria [265, 289]. Sin embargo, cuando se aplica directamente en el contexto de las poblaciones de linfocitos T, la ley de Gausse da lugar a la denominada **paradoja de la competencia–diversidad** [265, 280, 298]. En efecto, si los distintos clones de linfocitos de memoria compitiesen por las citoquinas ocuparían el mismo nicho ecológico, ya que linfocitos de clones distintos sólo se diferencian en el TCR, y no en su capacidad para consumir citoquinas. Sin embargo, el sistema inmunitario es capaz de mantener una gran variedad de clones de memoria a lo largo del tiempo, lo que viola aparentemente el principio de exclusión competitiva.

Los modelos clásicos de dinámica de poblaciones explotan implícitamente la analogía entre los individuos de poblaciones ecológicas y las células, sin tener en cuenta la función que desempeñan los linfocitos en el contexto del organismo (ver capítulo 6). Sin embargo, cuando tenemos en cuenta la función, las diferencias entre las poblaciones ecológicas y las poblaciones celulares son evidentes. Por ejemplo, las células memoria evitan dominar la población de linfocitos para que el sistema no pierda riqueza de clones con el tiempo, algo que no ocurre necesariamente en las poblaciones ecológicas que compiten por recursos. De la paradoja de la competencia–diversidad se deduce que, o bien los linfocitos no compiten por los recursos, o bien los modelos clásicos de dinámica de poblaciones no capturan la naturaleza de esta competencia.

La analogía entre los clones de linfocitos efectores y los sistemas mecánicos elásticos introducida en el capítulo anterior permite entender las poblaciones de linfocitos efectores como sistemas elásticos que tienden a extinguirse en ausencia de una fuerza externa, en este caso, la presencia de antígeno. La analogía puede extenderse de manera natural a las poblaciones de linfocitos naïve y memoria: la tendencia de los linfocitos a desaparecer cuando no hay citoquinas disponibles puede interpretarse como una fuerza elástica intrínseca que se compensa por la acción de fuerzas externas, en este caso la presencia de citoquinas en el medio. Esta observación nos lleva a formular la siguiente hipótesis:

### 7.1.2. Hipótesis 9. Las citoquinas responsables de la homeostasis actúan como una fuerza sobre las poblaciones de células T

*Las poblaciones de linfocitos T naïve y memoria son sistemas elásticos. La homeostasis de los linfocitos T es el resultado de un equilibrio entre una fuerza elástica intrínseca y fuerzas externas causadas por las citoquinas.*

A partir de esta hipótesis vamos a modelizar la homeostasis de una población de linfocitos bajo el control de una citoquina homeostática. A continuación

generalizaremos este modelo para analizar la homeostasis del número de linfocitos T naïve y memoria. Por último, la homeostasis del número de clones será considerada en el capítulo siguiente.

## 7.2. Modelo 4. Homeostasis de una población de linfocitos

Consideraremos inicialmente una población de linfocitos sometidos al control homeostático de una única citoquina. Si denotamos por  $H(t)$  y  $x(t)$  la cantidad de esta citoquina y el tamaño de la población de linfocitos en el instante  $t$  respectivamente, la hipótesis anterior puede formalizarse mediante el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \ddot{x}(t) = -kx(t) - c\dot{x}(t) + \lambda_H H(t) \\ \dot{H}(t) = \varphi - \mu x(t) \\ x(0) = x_0 \\ \dot{x}(0) = 0 \\ H(0) = H_0 \end{cases} \quad (7.2)$$

con  $k$ ,  $c$ ,  $\lambda_H$ ,  $\varphi$  y  $\mu$  parámetros estrictamente positivos y con la restricción  $H(t) \geq 0$  y  $x(t) \geq 0$ . La fuerza elástica de recuperación de la población viene dada por  $-kx(t)$ , mientras que  $\lambda_H H(t)$  es una fuerza externa ejercida por la citoquina  $H(t)$ , que denominaremos **fuerza homeostática** y  $-c\dot{x}(t)$  es una fuerza de rozamiento, que representa la resistencia de la población a la acción de las fuerzas de recuperación y homeostática.

Según este modelo, la citoquina es producida a una tasa constante  $\varphi$  y desaparece al ser consumida por los linfocitos, representando el parámetro  $\mu$  el consumo de citoquina por cada célula. En ausencia de citoquinas, la población desaparece como consecuencia de la fuerza elástica, mientras que el consumo de citoquinas ejerce una fuerza homeostática que compensa la tendencia de la población a extinguirse. El parámetro  $\lambda_H$  indica la magnitud de la fuerza ejercida por unidad de citoquina, mientras que los parámetros  $k$  y  $c$  describen la naturaleza elástica de la población de linfocitos.

El sistema de ecuaciones 7.2 se encuentra en equilibrio para:

$$\begin{cases} x^* = \frac{\varphi}{\mu} \\ H^* = \frac{k\varphi}{\lambda\mu} \end{cases} \quad (7.3)$$

Una condición suficiente para que el equilibrio anterior sea un atractor (ver

apéndice C) viene dada por:

$$\begin{cases} k > \frac{c^2}{3} \\ \mu\lambda_H < ck. \end{cases} \quad (7.4)$$

Para cualquier combinación de parámetros que verifiquen la condición anterior, las ecuaciones 7.2 reproducen el comportamiento de la población de linfocitos T en relación con las citoquinas homeostáticas, que puede resumirse en los cuatro puntos siguientes:

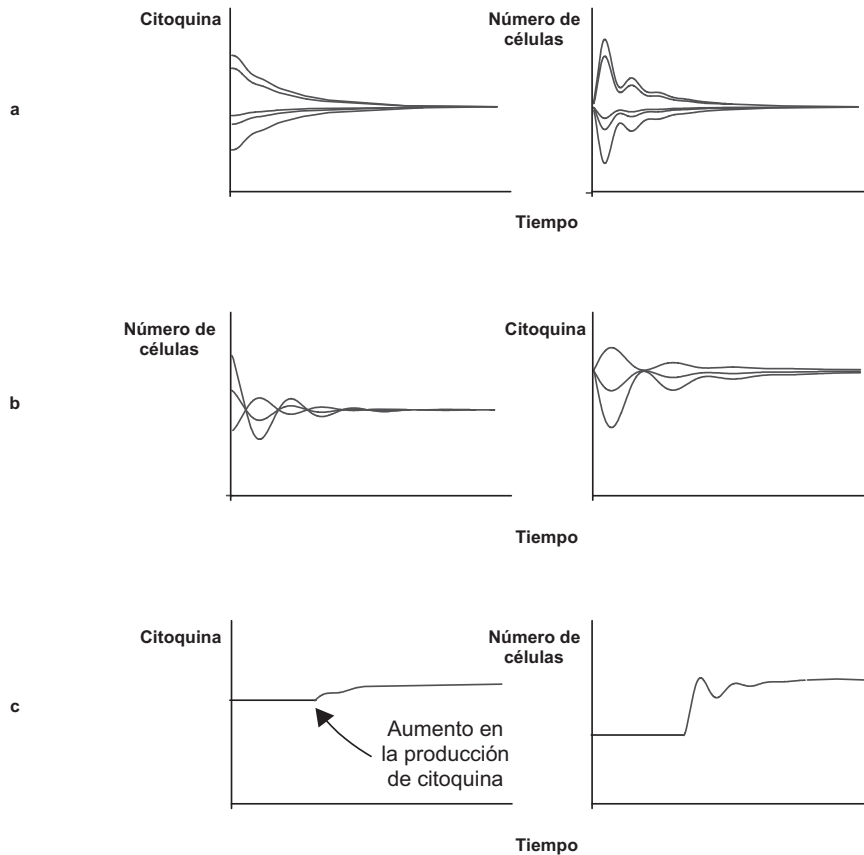
- Las citoquinas responsables de la homeostasis están producidas por células no inmunitarias y en condiciones normales se encuentran en cantidades constantes en el organismo.
- Si las citoquinas desaparecen, también lo hacen los linfocitos T, mientras que si la cantidad de citoquinas aumenta, se establece un nuevo equilibrio en el que la población de células es mayor.
- En ausencia de una infección el número de linfocitos se encuentra en equilibrio y depende exclusivamente de la cantidad de citoquinas disponibles. En esta situación, la población compensa cualquier aporte externo de células recuperando el equilibrio inicial.
- Del mismo modo, si por alguna razón parte de las células T desaparece, las células restantes proliferan hasta recuperar la situación de equilibrio.

Cualquier perturbación en el número de células o en la cantidad de citoquinas es asimilado por el sistema, que tiende a recuperar la situación inicial de equilibrio (ver figura 7.3). A partir de esta observación, definimos la **capacidad de carga** de la población celular elástica  $x$  debida a la citoquina homeostática  $H$ , y la denotamos por  $\mathcal{K}$  como el cociente:

$$\mathcal{K} = \frac{\varphi}{\mu}.$$

Hay que observar que la capacidad de carga depende de la relación entre la producción y el consumo de la citoquina  $H$ , de modo que un cambio en la tasa de producción de la citoquina  $H$  (parámetro  $\varphi$ ) lleva al sistema a un nuevo equilibrio, dado por las igualdades 7.3 (ver figura 7.3.c).

El sistema 7.3 explica el equilibrio de la población de linfocitos, pero también cómo la citoquina responsable de la homeostasis puede mantenerse constante sin necesidad de un mecanismo que controle la cantidad de citoquina disponible en cada momento. El equilibrio en la citoquina resulta de una producción constante y un consumo proporcional al tamaño de la población de linfocitos. La producción constante de IL-7 (un ejemplo paradigmático de citoquina



**Figura 7.3:** Simulaciones numéricas del Modelo 4. El modelo reproduce la homeostasis de una población de células controladas por una citoquina. El equilibrio del sistema no se ve afectado por cambios en la cantidad de citoquinas (a) o en el número de linfocitos (b). De hecho, estos cambios son asimilados por el sistema, que tiende a recuperar la situación inicial. c) Sin embargo, un incremento en la producción de citoquina (representado por un aumento en el parámetro  $\varphi$ ) sí es capaz de cambiar el equilibrio del sistema.

homeostática) en ausencia de infección apunta a que el organismo podría de hecho utilizar un procedimiento como el descrito más arriba para mantener el equilibrio de las poblaciones de linfocitos [119, 285, 287].

### 7.3. El nicho ecológico de los linfocitos T

En los Modelos 3 y 4 hemos considerado las poblaciones de linfocitos como sistemas elásticos que tienden a extinguirse en ausencia de fuerzas externas. Hay que observar que la única diferencia entre estos modelos se debe exclusivamente a la naturaleza de la fuerza externa (el patógeno y una citoquina homeostática respectivamente) y no al comportamiento de las poblaciones de linfocitos, que se ha asumido igual en ambos casos.

Las fuerzas externas que compensan la tendencia de las poblaciones elásticas a extinguirse no son más que la manifestación macroscópica de la interacción de receptores específicos presentes en la membrana de los linfocitos con moléculas solubles, o bien con moléculas que se encuentran en la membrana de otras células. La naturaleza de las fuerzas en los sistemas celulares elásticos sugiere la existencia de situaciones más generales que las descritas por el sistema 6.3, en la que se considera una única población sometida a la acción de una única fuerza externa. Por ejemplo, varias fuerzas pueden actuar simultáneamente sobre una población de linfocitos, y al contrario, varias poblaciones celulares pueden competir por el acceso a una fuerza externa.

Con el fin de generalizar el sistema 6.3 para incluir estas situaciones, definiremos el **nicho ecológico** o simplemente **nicho** de una población celular elástica  $x$ , y lo denotaremos por  $\mathcal{N}_x$ , como el conjunto de fuerzas externas que actúan sobre dicha población, es decir, el conjunto de moléculas que son capaces de provocar la aceleración de la población.

Si el nicho de una población incluye más de una fuerza externa, la aceleración total debe resultar de la interacción entre estas fuerzas. Por otra parte, si los nichos de poblaciones celulares elásticas se solapan, las fuerzas que actúan simultáneamente sobre ambas poblaciones tienen que repartirse de alguna manera entre ellas. Para resolver estas cuestiones planteamos dos nuevas hipótesis:

### 7.4. Hipótesis 10. Las fuerzas que actúan sobre las poblaciones de linfocitos son aditivas

*La fuerza externa total experimentada por una población de linfocitos es la suma de todas las fuerzas externas que actúan sobre la población.*

Bajo esta hipótesis, la evolución de una población celular elástica puede mo-



delizarse mediante la ecuación diferencial:

$$\ddot{x}(t) + c\dot{x}(t) + kx(t) = \sum_{F \in \mathcal{N}_x} \lambda_{Fx} F(t) \quad (7.5)$$

donde  $c$  y  $k$  son los parámetros elásticos de la población y  $F(t)$  es, para cada tiempo  $t$ , la cantidad de una molécula  $F$  que ejerce una fuerza externa sobre la población  $x$ . El parámetro  $\lambda_{Fx}$  representa la aceleración inducida en la población  $x$  por cada unidad de fuerza externa  $F$ .

Dado que las poblaciones celulares no pueden tener valores negativos, la ecuación anterior es válida exclusivamente para  $x \geq 0$ .

## 7.5. Hipótesis 11. Competencia por reparto de fuerzas

*Si  $n$  poblaciones celulares elásticas  $(x_1, \dots, x_n)$  compiten por una fuerza externa  $F$ , la magnitud de la fuerza percibida por la población  $x_i$  ( $F_i$ ) viene dada, para cada  $F \in \cap_{i=1}^n \mathcal{N}_i$ , por:*

$$F_i(t) = \frac{x_i(t)}{x_1(t) + \dots + x_n(t)} F(t), \quad \text{para } i = 1, \dots, n. \quad (7.6)$$

El solapamiento entre nichos ecológicos es una idea central en la definición de competencia entre especies ecológicas (ver sección 7.1.1). Sin embargo, tanto el nicho como el solapamiento entre nichos se consideran sólo de manera indirecta en los modelos clásicos de competencia, a través de sus consecuencias sobre las tasas de crecimiento o las capacidades de carga de las especies competidoras. Por ejemplo, el nicho no aparece explícitamente en la ecuación de competencia de Lotka–Volterra, y la competencia entre dos especies se expresa únicamente a través de un parámetro (ver la ecuación 7.2).

## 7.6. Modelo 5. Competencia por una citoquina homeostática entre dos poblaciones elásticas

Para ilustrar la diferencia entre los modelos de competencia en poblaciones elásticas que proponemos en este trabajo y los modelos de competencia clásicos, vamos a considerar una situación hipotética en la que dos poblaciones celulares  $x_1$  y  $x_2$  comparten una citoquina homeostática  $H$ . En este caso, tenemos que

$$\mathcal{N}_1 = \mathcal{N}_2 = \{H\},$$

con lo que la Hipótesis 11 puede formalizarse en el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \ddot{x}_1(t) + c_1\dot{x}_1(t) + k_1x_1(t) = \lambda_1 \frac{x_1(t)}{x_1(t)+x_2(t)} H(t) \\ \ddot{x}_2(t) + c_2\dot{x}_2(t) + k_2x_2(t) = \lambda_2 \frac{x_2(t)}{x_1(t)+x_2(t)} H(t) \\ \dot{H}(t) = \varphi - \mu_1x_1(t) - \mu_2x_2(t) \\ x_1(0) = x_{10} \\ \dot{x}_1(0) = v_{10} \\ x_2(0) = x_{20} \\ \dot{x}_2(0) = v_{20} \\ H(0) = H_0 \end{cases} \quad (7.7)$$

para valores positivos de  $x_1$  y  $x_2$ .

Hay que observar que este modelo incluye explícitamente tanto los recursos (la citoquina  $H$ ) como el mecanismo de competencia, formulado en la Hipótesis 11. Los parámetros  $c_1$ ,  $k_1$ ,  $c_2$  y  $k_2$  recogen la naturaleza elástica de las poblaciones. Por otra parte,  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  representan la aceleración inducida en  $x_1$  y  $x_2$  respectivamente por la citoquina  $H$ , mientras que  $\mu_1$  y  $\mu_2$  expresan el consumo de la citoquina  $H$  por parte de ambas poblaciones celulares.

Una primera diferencia entre este modelo y el modelo de competencia de Lotka–Volterra es que, incluso si los nichos de las dos poblaciones son idénticos, la coexistencia es posible bajo una combinación determinada de los parámetros del modelo. Así, si se cumple la condición  $\lambda_1 k_2 = \lambda_2 k_1$ , cualquier punto  $(x_1^*, x_2^*, H^*)$  que verifique las condiciones:

$$\begin{cases} H^* = \frac{k_1\varphi}{\lambda_1\mu_1} - \frac{k_1\mu_2}{\lambda_1\mu_1} x_2^* \\ x_1^* = \frac{\varphi}{\mu_1} - \frac{\mu_2}{\mu_1} x_2^*. \end{cases}$$

es un punto de equilibrio del sistema (ver figura 7.4.a).

Las ecuaciones 7.7 también conducen a la exclusión competitiva de una de las especies en algunas circunstancias. En primer lugar, si  $\frac{\lambda_1}{k_1} > \frac{\lambda_2}{k_2}$ , el sistema tiene un equilibrio estable en:

$$H^* = \frac{k_1\varphi}{\lambda_1\mu_1}, \quad x_1^* = \frac{\varphi}{\mu_1} \quad \text{y} \quad x_2^* = 0$$

Al contrario, si  $\frac{\lambda_1}{k_1} < \frac{\lambda_2}{k_2}$ , la población excluida en el equilibrio es  $x_1$ :

$$H^* = \frac{k_2\varphi}{\lambda_2\mu_2}, \quad x_1^* = 0 \quad \text{y} \quad x_2^* = \frac{\varphi}{\mu_2}.$$

La condición de equilibrio del sistema 7.7 nos lleva a introducir el concepto de capacidad competitiva de una población celular elástica. Definimos la **capacidad competitiva** de una población  $x$  por una citoquina  $H$ , y la denotamos

por  $C_{Hx}$  al cociente

$$C_{Hx} = \frac{\lambda_{Hx}}{k_x} \text{ para cada } H \in \mathcal{N}_x.$$

En el apartado siguiente consideramos una situación más compleja y más parecida al comportamiento observado en la homeostasis de los linfocitos naïve y memoria.

## 7.7. Modelo 6. Homeostasis del número de células T CD8+ naïve y memoria

En el caso de los linfocitos T CD8+, las necesidades de las poblaciones naïve y memoria en homeostasis son diferentes: mientras que las células naïve requieren IL-7, los linfocitos memoria consumen IL-7 e IL-15. Denotaremos por  $H(t)$  y  $L(t)$  las cantidades de IL-7 e IL-15 respectivamente y por  $m(t)$  y  $n(t)$  las poblaciones de linfocitos memoria y naïve. Los nichos de memoria y naïve son por tanto:

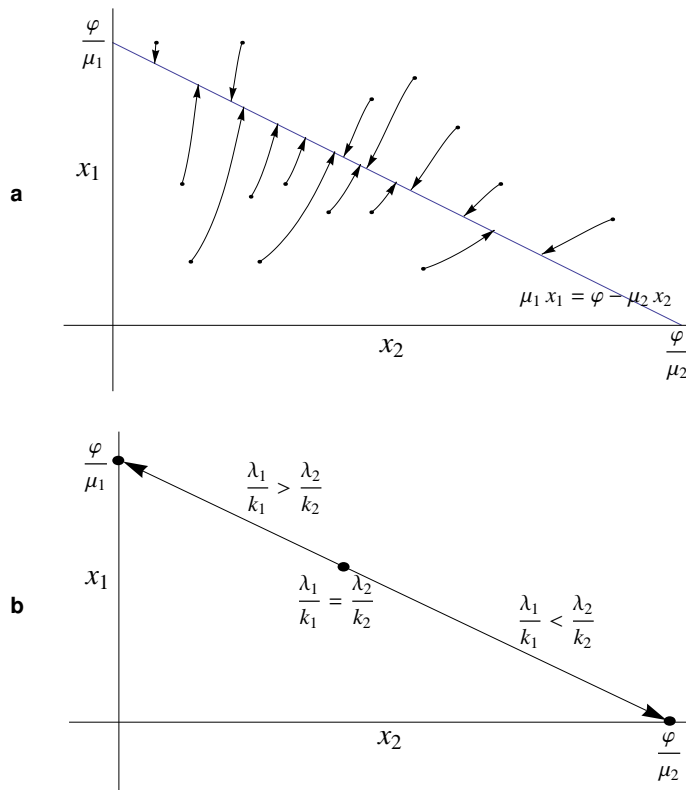
$$\mathcal{N}_m = \{H, L\} \text{ y } \mathcal{N}_n = \{H\}.$$

De acuerdo con las hipótesis 10 y 11, la homeostasis de los linfocitos naïve y memoria se puede modelizar mediante el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \dot{m}(t) + c_m \dot{n}(t) + k_m m(t) = \lambda_{Hm} \frac{m(t)}{m(t)+n(t)} H(t) + \lambda_{Lm} L(t) \\ \dot{n}(t) + c_n \dot{n}(t) + k_n n(t) = \lambda_{Hn} \frac{n(t)}{m(t)+n(t)} H(t) \\ \dot{H}(t) = \varphi_H - \mu_{mH} m(t) - \mu_{nH} n(t) \\ \dot{L}(t) = \varphi_L - \mu_{mL} m(t) \end{cases} \quad (7.8)$$

donde  $c_m$ ,  $c_n$ ,  $k_m$  y  $k_n$  son los parámetros elásticos de ambas poblaciones,  $\lambda_{Ji}$  representa la fuerza percibida por la población  $i$  por cada unidad de citoquina  $J$ ,  $\mu_{iJ}$  es el consumo de citoquina  $J$  por individuo de la población  $i$  y  $\varphi_J$  la producción de citoquina  $J$  (para  $i \in \{m, n\}$  y  $J \in \{H, L\}$ ).

Según este modelo, las citoquinas homeostáticas son producidas con tasas constantes, y desaparecen como consecuencia del consumo por parte de los linfocitos. La fuerza que genera la citoquina en cada población depende únicamente de la proporción que esta población representa en el total de linfocitos que consumen la citoquina (ver ecuación 7.6).



**Figura 7.4:** a) Dos poblaciones celulares elásticas,  $x_1$  y  $x_2$ , que compiten por una citoquina homeostática pueden coexistir si tienen la misma capacidad competitiva por la citoquina, es decir, si  $\frac{\lambda_1}{k_1} = \frac{\lambda_2}{k_2}$ . Para cualquier situación inicial con  $x_{10} > 0$  y  $x_{20} > 0$ , el sistema tiende a alcanzar un punto de equilibrio situado en la recta dada por la ecuación  $\mu_1 x_1 = \varphi - \mu_2 x_2$ . b) Un cambio en las capacidades competitivas provoca el desplazamiento del sistema a un nuevo equilibrio en el que una de las dos especies se extingue.

En estas condiciones, el sistema anterior se encuentra en equilibrio para:

$$\begin{cases} m^* = \frac{\varphi_L}{\mu_{mL}} \\ n^* = \frac{\varphi_H}{\mu_{nH}} - \frac{\varphi_L}{\mu_{mL}} \frac{\mu_{mH}}{\mu_{nH}} \\ H^* = \frac{k_n}{\lambda_{Hn}\mu_{nH}} (\varphi_H + \varphi_L \frac{\mu_{nH} - \mu_{mH}}{\mu_{mL}}) \\ L^* = \frac{\varphi_L}{\lambda_{Lm}\mu_{mL}} (k_m - \frac{\lambda_{Hm}}{\lambda_{Hn}} k_n) \end{cases} \quad (7.9)$$

Las condiciones anteriores pueden expresarse en términos de capacidades de carga y capacidades competitivas como:

$$\begin{cases} m^* = \mathcal{K}_{Lm} \\ n^* = \mathcal{K}_{Hn} (1 - \frac{\mathcal{K}_{Lm}}{\mathcal{K}_{Hm}}) \\ H^* = \frac{\mathcal{K}_{Hn}}{\mathcal{C}_{Hn}} + \mathcal{K}_{Lm} (1 - \frac{\mathcal{K}_{Hn}}{\mathcal{K}_{Hm}}) \\ L^* = \frac{\mathcal{K}_{Lm}}{\mathcal{C}_{Lm}} (1 - \frac{\mathcal{C}_{Hm}}{\mathcal{C}_{Hn}}) \end{cases} \quad (7.10)$$

donde  $\mathcal{K}_{Ji}$  es la capacidad de carga de la población  $i$  debida a la citoquina  $J$  (para  $i \in \{m, n\}$  y  $J \in \{K, L\}$ ).

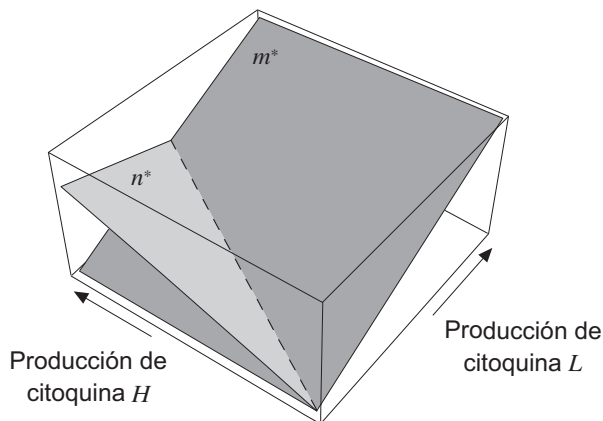
El sistema de ecuaciones 7.8 sólo es válido para valores positivos de  $m(t)$ ,  $n(t)$ ,  $H(t)$  y  $L(t)$ . Por tanto, para que este equilibrio corresponda a una situación admisible, deben verificarse además las condiciones adicionales:

$$\mathcal{K}_{Hm} > \mathcal{K}_{Hn} \text{ y } \mathcal{C}_{Hn} > \mathcal{C}_{Hm}.$$

Es decir, que para que exista un equilibrio debe cumplirse, por una parte que la capacidad de carga debida a la citoquina  $H$  sea mayor para la población de memoria que para la población de linfocitos naïve. Por otra parte, es necesario que la población de células T naïve tenga más capacidad competitiva por la citoquina  $H$  que la población de linfocitos de memoria.

El sistema 7.8 admite por tanto un equilibrio en el que ambas poblaciones coexisten (figura 7.5). Las poblaciones de linfocitos naïve y memoria en el equilibrio están determinadas por las tasas de producción de las citoquinas  $H$  y  $L$  y por los parámetros de consumo  $\mu_{1H}$ ,  $\mu_{2H}$  y  $\mu_{1L}$ , y no por las cantidades de citoquinas. Así, la adición puntual de células o citoquinas es asimilada por el sistema, que tiende a recuperar el equilibrio inicial.

Hay que observar que, en este caso, el tamaño de la población en el equilibrio no coincide necesariamente con la capacidad de carga de esa población con respecto a las citoquinas que componen su nicho. Por ejemplo, la población de células naïve en equilibrio es menor que la capacidad de carga debida a la citoquina  $H$ . Además, la población de memoria en el equilibrio coincide con la capacidad de carga debida a la citoquina  $L$ , pero no depende directamente de la citoquina  $H$ .

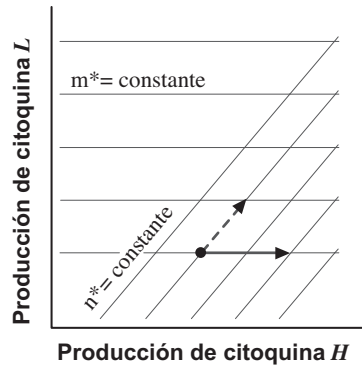


**Figura 7.5:** Valores de las poblaciones de linfocitos naïve ( $n^*$ ) y memoria ( $m^*$ ) en el equilibrio en función de la producción de las citoquinas  $H$  y  $L$ , dados por las ecuaciones 7.9. El sistema se encuentra en equilibrio en los puntos de intersección de dos planos (línea discontinua).

Por otra parte, el número de células T naïve y memoria en el equilibrio pueden modularse de manera independiente, ajustando la producción de cada una de las citoquinas (figura 7.6).

Los Modelos 5 y 6 ponen de manifiesto las diferencias entre el marco teórico de las poblaciones elásticas y los modelos clásicos de dinámica de poblaciones. Los modelos clásicos no permiten diferenciar entre la competencia por una o por dos citoquinas, ya que en ambos casos la competencia se traduce exclusivamente en un parámetro de competencia. Sin embargo, como hemos visto en este capítulo, el comportamiento puede ser muy distinto en ambos casos, asumiendo que la competencia no implica un cambio en las tasas de crecimiento o en el tamaño de las poblaciones en el equilibrio, sino un reparto de las fuerzas homeostáticas.

Por otra parte, en los modelos de poblaciones elásticas el recurso responsable de la competencia se considerara explícitamente. Esto permite que los modelos de competencia no sólo expliquen el tamaño de las poblaciones en el equilibrio, sino que explica también la relación entre este tamaño y la cantidad de citoquinas en dicho equilibrio.



**Figura 7.6:** Isolíneas de tamaño de las poblaciones naíve y memoria en el equilibrio (ver ecuación 7.9). Para cualquier elección de los parámetros de consumo de las citoquina  $H$  y  $L$  ( $\mu_{1H}$ ,  $\mu_{2H}$  y  $\mu_{1L}$ ), las poblaciones de linfocitos memoria y naíve en el equilibrio del sistema 7.8 pueden controlarse de manera independiente ajustando la producción de citoquinas ( $\varphi_H$  y  $\varphi_L$ ). Partiendo de una situación inicial determinada ( $\bullet$ ), un aumento en la producción de citoquina  $H$  permite al sistema alcanzar un nuevo equilibrio con el mismo número de células de memoria y más células naíve (línea continua). Por otra parte, un aumento en ambas citoquinas permite un equilibrio con más citoquinas de memoria, sin cambiar el tamaño de la población de linfocitos naíve (línea discontinua).

## Capítulo 8

# Interacciones complejas en poblaciones celulares elásticas

*“Once entrenched, theories can be difficult to displace. Just as Ptolemy added epicycle to epicycle to save his theory of planetary orbit, people tend to embellish and embroider any barely serviceable theory and often even prefer such baroque theories to simpler ones.”*

Allen Paulos. *I think therefore I laugh.*

El paradigma de las poblaciones elásticas permite construir modelos poblacionales que reproducen el comportamiento observado de las poblaciones de linfocitos T CD8+ efectoros durante la expansión y la contracción clonal (Modelo 3, sección 6.4) y la homeostasis de los linfocitos naïve y memoria (Modelos 4, 5 y 6, secciones 7.2, 7.6 y 7.7 respectivamente). En este capítulo vamos a integrar estos modelos, que se centran en aspectos parciales del funcionamiento de los linfocitos T CD8+, en un modelo más general que incluya explícitamente el hecho de que la respuesta a un agente infeccioso y la homeostasis de linfocitos de memoria son fenómenos que tienen lugar simultáneamente.

A partir de este modelo general, veremos que comportamientos complejos de los linfocitos T, como la inmunodominancia, o la aparición de un número determinado de linfocitos memoria específicos para un antígeno tras una infección aguda, pueden explicarse a partir de un conjunto reducido de hipótesis introducidas en los capítulos anteriores.



## 8.1. Modelo 7. La fuerza antigénica y la fuerza homeostática en la formación de la memoria inmunitaria

En la primera parte de este trabajo hemos propuesto que la división asimétrica de los linfocitos naïve tras la sinapsis inmunitaria da lugar a dos tipos celulares que difieren en la susceptibilidad a la apoptosis durante la contracción clonal, de modo que las células que sobreviven acaban originando una población estable de células de memoria. Para simplificar la notación, en este capítulo nos referiremos a ambos tipos celulares como células T efectoras y memoria respectivamente.

Las células de memoria originadas tras un episodio de expansión y contracción entran a formar parte de una población de linfocitos T CD8+ de memoria ya existente y sometida al proceso de homeostasis, de modo que la aparición de nuevas células de memoria tras una infección conlleva la muerte de linfocitos presentes en el compartimento de memoria [118, 299]. Además, tanto las células efectoras como las células memoria pueden proliferar en presencia del antígeno. Por tanto, las células de memoria que aparecen en el curso de una respuesta inmunitaria tras la activación y la división asimétrica de las células T naïve (ver sección 3.5) experimentan la acción simultánea de dos fuerzas diferentes. Por una parte, el antígeno ejerce sobre los linfocitos de memoria una fuerza análoga a la que causa la expansión clonal de los linfocitos efectores (ver página 76), de modo que las células efectoras y de memoria compiten por la cantidad de antígeno disponible (ver sección 4.4). Por otra parte, los linfocitos de memoria de los clones recién activados deben competir por la fuerza homeostática con los clones de memoria ya existentes.

Con el fin de simplificar el modelo de formación de memoria, en esta sección no consideraremos la homeostasis de los linfocitos naïve y supondremos que la homeostasis del compartimento de memoria depende de una única citoquina  $H$ . Bajo esta hipótesis, los nichos de las poblaciones implicadas son, por tanto:

$$\mathcal{N}_x = \{y\}, \mathcal{N}_m = \{H, y\} \text{ y } \mathcal{N}_M = \{H\}$$

siendo  $y$  el patógeno,  $x$  y  $m$  las poblaciones de linfocitos efectores y linfocitos memoria específicos para los antígenos del patógeno y  $M$  los linfocitos presentes en el compartimento de memoria antes de la infección.

A partir de las hipótesis 8, 9, 10 y 11, la expansión y contracción clonal, y la formación de memoria pueden describirse simultáneamente mediante el

siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\left\{ \begin{array}{l} \ddot{x}(t) = -c_x \dot{x}(t) - k_x x(t) + \lambda_{yx} \frac{x(t)}{x(t)+m(t)} y(t) \\ \ddot{m}(t) = -c_m \dot{m}(t) - k_m m(t) + \lambda_{ym} \frac{m(t)}{x(t)+m(t)} y(t) + \lambda_H \frac{m(t)}{M(t)+m(t)} H(t) \\ \ddot{M}(t) = -k_m M(t) - c_m \dot{M}(t) + \lambda_H \frac{M(t)}{M(t)+m(t)} H(t) \\ \dot{H}(t) = \varphi - \mu M(t) - \mu m(t) \\ \dot{y}(t) = \alpha y(t) - \beta x(t)y(t) \\ x(0) = x_0 > 0 \\ \dot{x}(0) = 0 \\ m(0) = m_0 > 0 \\ \dot{m}(0) = 0 \\ M(0) = M^* \\ \dot{M}(0) = 0 \\ H(0) = H^* \\ y(0) = y_0 \end{array} \right. \quad (8.1)$$

donde  $k_x$ ,  $k_m$ ,  $c_x$  y  $c_m$  son los parámetros de elasticidad y resistencia de las poblaciones efectora y memoria,  $\lambda_{Fi}$  indica la aceleración inducida en la población  $i$  por la fuerza  $F$ ,  $\varphi$  y  $\mu$  son los parámetros de producción y consumo de la citoquina homeostática y  $\alpha$  y  $\beta$  son las tasas de crecimiento y eliminación del patógeno respectivamente.  $M^*$  y  $H^*$  son el tamaño del compartimento y la cantidad de citoquina en el equilibrio (ver ecuación 7.3), que están dadas por:

$$\left\{ \begin{array}{l} M^* = \frac{\varphi}{\mu} \\ H^* = \frac{k_m \varphi}{\lambda_H \mu} \end{array} \right. \quad (8.2)$$

Los detalles microscópicos de la interacción TCR-pMHC se traducen en los parámetros macroscópicos  $\lambda_{yx}$  y  $\lambda_{ym}$ , que reúnen la información sobre la afinidad, la duración de la interacción, y todos aquellos aspectos de la sinapsis que modulan la proliferación de los linfocitos T efectores y memoria respectivamente. Por otra parte, dado que los linfocitos de memoria de los clones activados son idénticos a las células T presentes en el compartimento de memoria antes de la infección, asumimos que el valor de los parámetros relativos a la fuerza homeostática ( $\lambda_H$  y  $\mu$ ) son iguales para ambas poblaciones.

Hay que observar que las ecuaciones 8.1 se deducen de las hipótesis de linealidad de la fuerza y de competencia por reparto de fuerzas en las poblaciones celulares elásticas, introducidas en el capítulo anterior.

### 8.1.1. El tamaño de memoria inmunitaria. Vacunas y adyuvantes

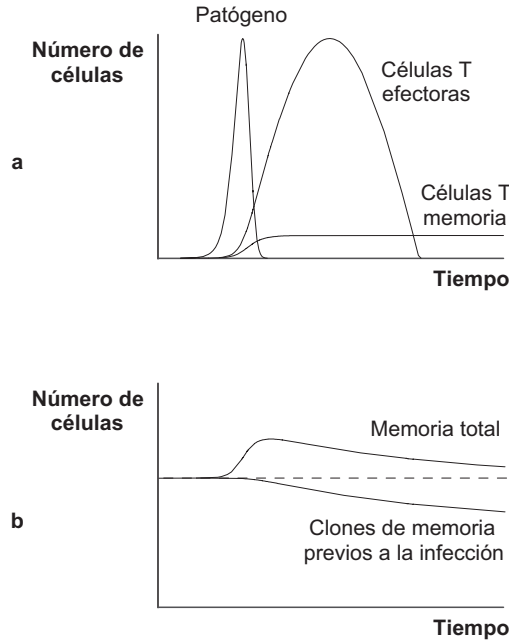
El Modelo 7 reproduce el comportamiento cualitativo de los linfocitos efectoros y memoria en el curso de una infección aguda: al mismo tiempo que la expansión clonal propicia la desaparición del patógeno, la fuerza antigénica hace que los clones de memoria específicos para el patógeno proliferen, desplazando a parte de la población de memoria que se encontraba en equilibrio antes de la infección (figura 8.1). Como consecuencia del fenómeno de homeostasis, la memoria total tiende a recuperar de nuevo el equilibrio inicial aunque, tras el episodio de infección, la composición de la memoria cambia.

De hecho, aunque el tamaño total del compartimento de memoria está determinado por citoquinas homeostáticas, el espacio que ocupa cada clon en este compartimento depende de la magnitud de la fuerza antigénica que lo ha originado (figura 8.2). Este fenómeno ha sido descrito en estudios experimentales que han observado que las infecciones con patógenos nuevos provocan la disminución en la frecuencia de células T específicas para infecciones anteriores [300, 301].

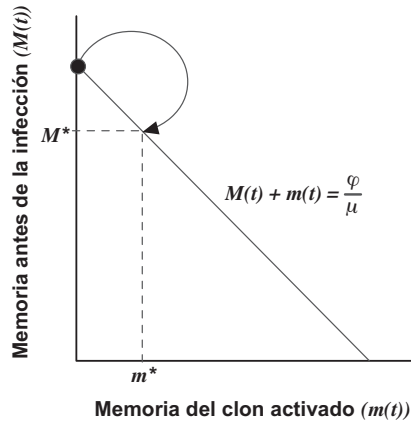
De acuerdo con el Modelo 7, la paradoja competencia-diversidad, introducida en el capítulo anterior no se plantea en el contexto de los linfocitos T de memoria, ya que una vez que un clon entra en el compartimento de memoria, su frecuencia no cambia como consecuencia de la competencia por citoquinas homeostáticas, sino que únicamente puede cambiar por la llegada de nuevos clones en futuras infecciones.

La entrada de clones nuevos a una población ya existente y en equilibrio tiene, sin embargo, consecuencias importantes sobre la composición del compartimento de memoria (ver figura 8.2). Así, un clon que llega con pocas células en el compartimento de memoria tiene más probabilidades de desaparecer como consecuencia de la producción de nuevos linfocitos tras cada episodio de infección que un clon que está presente con más células.

En el Capítulo 6 hemos conjeturado que el sistema de las células T ataca selectivamente a aquellos antígenos que presentan una elevada tasa de producción, de modo que son las características dinámicas del antígeno las que determinan si el sistema de los linfocitos T elimina completamente el patógeno o si, al contrario, este escapa a la respuesta inmunitaria. Desde este punto de vista, para los linfocitos T, las células que proliferan rápidamente (sean éstas de microorganismo patógeno o del propio organismo) son percibidas como una amenaza potencial, mientras que las células que crecen lentamente son considerados como propias, y por tanto toleradas. En la figura 8.3 se observa que el tamaño final de la memoria inmunitaria específica para un antígeno admite una explicación similar. Los clones que han respondido a un antígeno percibido como muy agresivo por las células efectoras generan una mayor población de linfocitos de



**Figura 8.1:** a) Simulación numérica del Modelo 7. Los parámetros del modelo pueden escogerse de modo que reproduzca el comportamiento de las poblaciones de linfocitos efectoras y memoria durante una infección aguda. b) La aparición de un nuevo clon de linfocitos de memoria supone la desaparición de parte de los linfocitos preexistentes. La escala se ha exagerado para ilustrar el resultado. La fuerza ejercida por el antígeno provoca un aumento inicial en la cantidad total de linfocitos de memoria ( $m(t) + M(T)$ ). Sin embargo, este aumento se compensa como consecuencia de la homeostasis y la población de memoria tiende a recuperar el equilibrio inicial una vez que se elimina el patógeno (línea discontinua). Los parámetros usados en la simulación son:  $k_x = 35$ ,  $c_x = 0$ ,  $\lambda_{yx} = 6$ ,  $\alpha = 50$ ,  $\beta = ,1$ ,  $y_0 = 1$ ,  $k_m = 50$ ,  $c_m = 30$ ,  $\lambda_{ym} = 7,5$ ,  $\lambda_H = ,1$ ,  $\varphi = 10^6$  y  $\mu = 5$ .

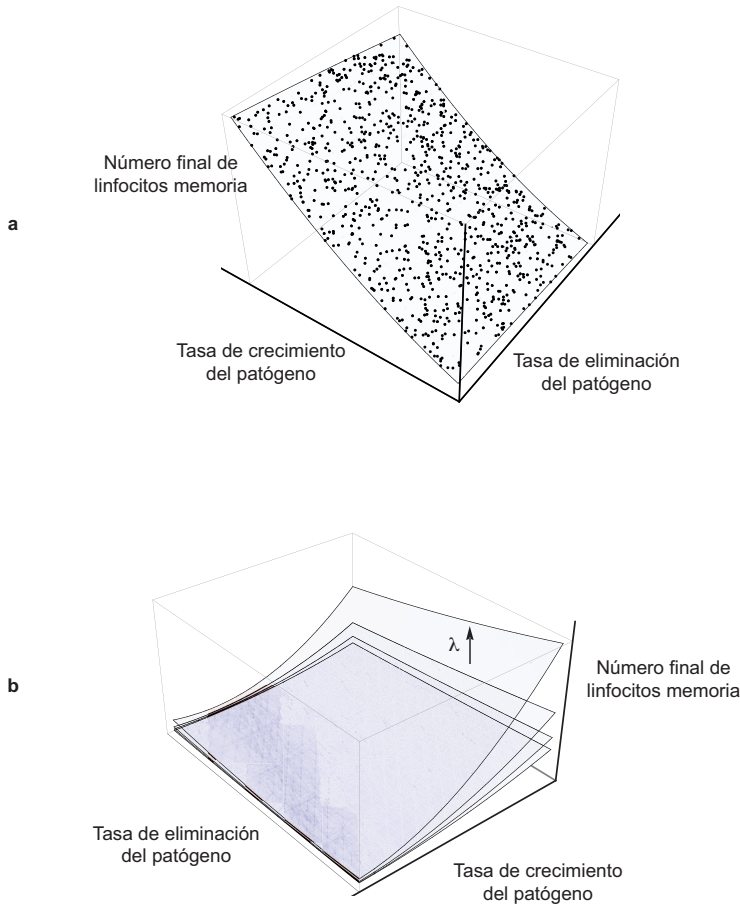


**Figura 8.2:** La capacidad de carga de la memoria total ( $\frac{\varphi}{\mu}$ ) está determinada por la relación entre la producción y el consumo de la citoquina homeostática  $H$ . La aparición de nuevos linfocitos de memoria tras una infección aguda desplaza temporalmente al compartimento de memoria del equilibrio homeostático. Cuando se recupera el equilibrio, el número total de linfocitos sigue siendo el mismo (el nuevo equilibrio debe estar en la recta de ecuación  $M(t) + m(t) = \frac{\varphi}{\mu}$ ), pero a costa de la desaparición de alguno de los linfocitos preexistentes antes de la infección. El tamaño que alcanza el nuevo clon de linfocitos memoria en el equilibrio ( $m^*$ ) depende de la magnitud de la fuerza antigénica y puede cambiar como consecuencia de infecciones posteriores, pero no como consecuencia de la competencia con otros clones.

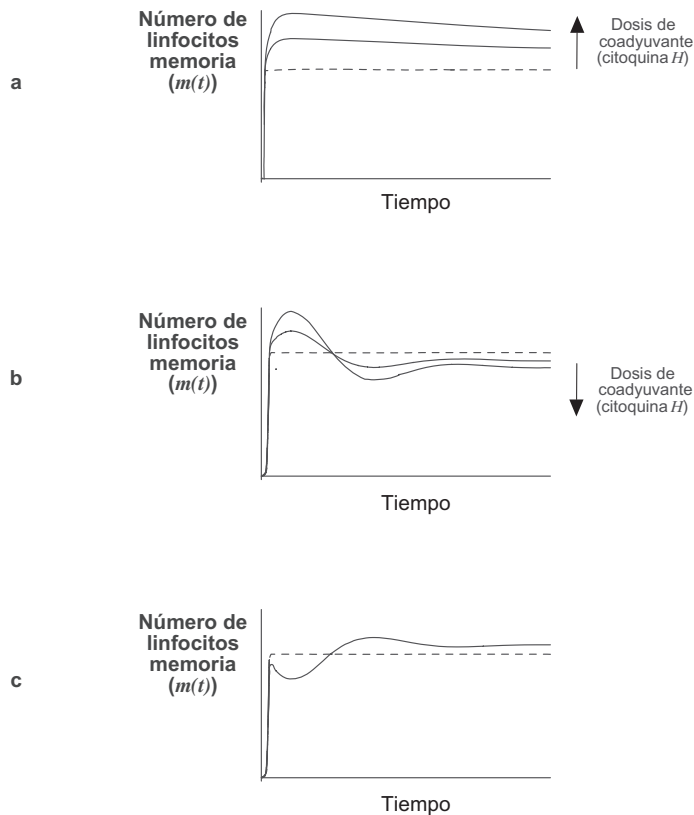
memoria, lo que a su vez reduce su posibilidad de desaparecer como consecuencia de la llegada de nuevas células T al compartimento de memoria en futuras infecciones. La formación de una memoria inmunitaria duradera y específica para antígenos presentes en agentes patógenos agresivos es precisamente el objetivo de las vacunas. Aunque la vacunación persigue, a menudo, la formación de anticuerpos para un patógeno determinado (fenómeno que depende de los linfocitos B, no considerados en este trabajo), esta estrategia no es suficiente en el caso de algunas enfermedades como el sida, la malaria o la tuberculosis [302], en las que también es necesario generar una memoria de linfocitos T para lograr una protección eficaz. En este contexto, el Modelo 7 puede utilizarse para entender los mecanismos que explican la efectividad de las vacunas usadas en la actualidad, así como para diseñar nuevas estrategias de vacunación que tengan en cuenta la naturaleza elástica de las poblaciones de linfocitos T. Así, la figura 8.3 sugiere tasas de crecimiento del patógeno altas dan lugar a una mayor población de células memoria. Se ha observado que, de hecho, las vacunas con patógenos capaces de proliferar (por ejemplo las empleadas contra la viruela o la fiebre amarilla), son capaces de desencadenar en humanos una respuesta equivalente a la observada durante una infección [20] y son más eficaces a la hora de generar una población duradera de memoria que la simple inoculación de antígenos [7, 303].

Otra posible vía para lograr aumentar la memoria inmunitaria es incidir sobre las fuerzas que constituyen el nicho de los linfocitos memoria: la fuerza antigénica y la fuerza homeostática. La función de distintas sustancias que se suministran con las vacunas, denominadas genéricamente **adyuvantes**, puede entenderse si analizamos su efecto sobre estas fuerzas. Algunos adyuvantes potencian la acción del sistema inmunitario innato, estimulando a las células dendríticas [304–306]. Desde la perspectiva del Modelo 7, estos adyuvantes actuarían aumentando el parámetro  $\lambda_{ym}$ , lo que incrementaría la fuerza antigénica percibida por los clones de memoria específicos para algún antígeno del patógeno.

En otras ocasiones se utilizan citoquinas homeostáticas como adyuvantes. Así, se ha observado que el suministro de IL-7 [307] o de IL-7 e IL-15 conjuntamente [93, 308] pueden potenciar la eficacia de una vacuna, al incrementar el número de células de memoria específicas originadas. El uso de citoquinas homeostáticas como adyuvantes puede simularse en el Modelo 7 tomando  $H(0) = H^* + \Delta H$ , siendo  $\Delta H$  la dosis de citoquina homeostática administrada como adyuvante. Como hemos visto en la sección 7.2, la adición de citoquina homeostática supone un aumento temporal del número de células de memoria, que tiende a volver posteriormente al equilibrio inicial (ver figura 7.3). Es importante observar que la adición de citoquinas homeostáticas conlleva un aumento en todo el compartimento de memoria, y no sólo el clon que quiere potenciarse mediante la vacunación. Las simulaciones numéricas sugieren, de hecho, que esta estrategia

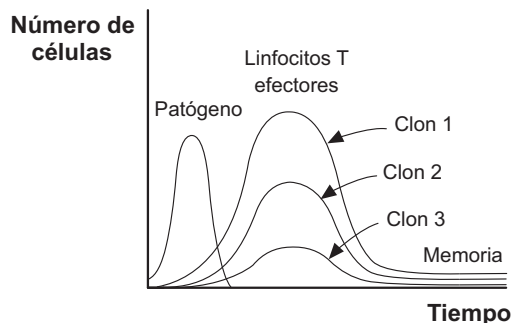


**Figura 8.3:** a) Simulaciones numéricas del Modelo 7 para distintas tasas de crecimiento eliminación del patógeno (cada punto corresponde al resultado de una simulación). Se observa que el número de células de memoria que aparecen tras la respuesta inmunitaria es mayor al aumentar la tasa de crecimiento del patógeno y al disminuir su tasa de eliminación. b) Simulaciones numéricas para distintos valores del parámetro de fuerza del antígeno ( $\lambda_{ym}$ ). La tendencia descrita en **a** se mantiene para cada valor del parámetro y se observa además que al crecer la fuerza del antígeno aumenta la población final de linfocitos de memoria específicos para este antígeno.



**Figura 8.4:** Simulación del efecto de las citoquinas homeostáticas como adyuvantes. Las simulaciones numéricas del Modelo 7 sugieren que el efecto de los adyuvantes podría depender de los parámetros dinámicos del antígeno. a) En ocasiones, la adición de adyuvantes puede ayudar a aumentar el número de linfocitos de memoria específicos para un antígeno. b) Para otros antígenos, sin embargo, el efecto de la adición de citoquinas homeostáticas podría ser el contrario, propiciando una menor formación de memoria. c) Para algunos antígenos, el aumento en la memoria inmunitaria podría conseguirse reduciendo y no aumentando la cantidad de citoquinas homeostáticas en la circulación. Los valores de los parámetros empleados en las simulaciones son: a)  $k_x = 30$ ,  $c_x = 0$ ,  $\lambda_{yx} = 6$ ,  $\alpha = 50$ ,  $\beta = ,1$ ,  $y_0 = 1$ ,  $k_m = 50$ ,  $c_m = 30$ ,  $\lambda_{ym} = 7,5$ ,  $\lambda_H = ,1$ ,  $\varphi = 10^6$  y  $\mu = 5$ . b y c)  $k_x = 30$ ,  $c_x = 0$ ,  $\lambda_{yx} = 6$ ,  $\alpha = 50$ ,  $\beta = ,1$ ,  $y_0 = 1$ ,  $k_m = 15$ ,  $c_m = 30$ ,  $\lambda_{ym} = 7$ ,  $\lambda_H = ,1$ ,  $\varphi = 10^6$  y  $\mu = 5$ . Las línea discontinua corresponde a una simulación en ausencia de adyuvantes ( $H(0) = H^*$ ) y las líneas continuas a simulaciones con  $H(0) = 1,5H^*$  y  $H(0) = 2H^*$  (a y b) y  $H(0) = 0,5H^*$  (c).





**Figura 8.5:** La llegada de células dendríticas a los ganglios linfáticos tras la detección de una infección provoca la activación de varios clones de linfocitos T simultáneamente. Sin embargo, la tasa de proliferación inducida por el patógeno no es la misma para todos los clones activados. Los clones dominantes alcanzan picos de población más altos en la expansión clonal y dan lugar a más células de memoria [300, 301].

de vacunación puede no ser eficaz, dependiendo del comportamiento dinámico de las células portadoras del patógeno (ver figura 8.4). Estos resultados explicarían las observaciones empíricas que apuntan que este tipo de adyuvantes no siempre dan lugar a la formación de más linfocitos de memoria [117].

## 8.2. Modelo 8. Inmunodominancia

Las células dendríticas que llegan a los ganglios linfáticos llevan muestras de multitud de proteínas recogidas en el foco de la infección, proteínas que son fragmentadas de manera aleatoria en el interior de la célula dando lugar a antígenos distintos que pueden provocar la activación simultánea de clones de linfocitos T CD8+ diferentes. Sin embargo, pocos días después de la infección sólo algunos clones proliferan de manera significativa [309–312], fenómeno que se conoce con el nombre de **inmunodominancia** [6] (figura 8.5).

Se ha observado que la inmunodominancia no es una característica de algunos clones, ya que cuando se elimina experimentalmente los epítomos que han sido dominantes en un proceso infeccioso, éstos son sustituido por otros [310, 313]. Sin embargo, los mecanismos responsables de la inmunodominancia se desconocen en la actualidad [312, 314, 315].

En la literatura pueden encontrarse de hecho, numerosos intentos de explicación *ad-hoc* sobre la inmunodominancia [316–318]. Se ha propuesto, por ejemplo, que la inmunodominancia es consecuencia de un fenómeno de competencia pasiva por las APCs, o bien de competencia activa en el que las células de algunos clones eliminarían directamente las células de otros clones [313]. En esta

sección vamos mostraremos que la inmunodominancia no es más que la consecuencia inevitable de la activación simultánea de clones de linfocitos que se diferencian en la afinidad de su TCR por alguno de los antígenos presentes en el patógeno, y que por tanto no requiere ninguna explicación adicional.

En la sección 6.3 hemos visto como la afinidad entre el TCR y el antígeno determina la fuerza antigénica percibida por un clon en el curso de una respuesta inmunitaria. La duración de la interacción TCR/pMHC puede ser muy diferente en dos antígenos que varían en un único aminoácido [227], lo que puede traducirse en grandes diferencias en la señal TCR percibida por el linfocito [310].

Estas diferencias se traducen en distintos valores del parámetro de fuerza antigénica ( $\lambda y x$ ) correspondiente a un clon  $x$ . En el marco de las poblaciones celulares elásticas, la activación simultánea de varios clones de linfocitos T, cada uno de ellos específico para alguno de los antígenos del patógeno, da lugar a la aparición de clones de linfocitos activados y memoria que compiten por la fuerza antigénica y que consecuentemente varían en los parámetros de fuerza antigénica.

Asumiendo la activación de  $n$  clones distintos, tenemos que:

$$\begin{cases} \mathcal{N}_{x1} = \dots = \mathcal{N}_{xn} = \{y\} \\ \mathcal{N}_{m1} = \dots = \mathcal{N}_{mn} = \{H, y\} \\ \mathcal{N}_M = \{H\} \end{cases}$$

donde  $x_1, \dots, x_n$  son las poblaciones de linfocitos efectores,  $m_1, \dots, m_n$  son las poblaciones de linfocitos de memoria que aparecen tras la infección, y  $M$  y  $H$  son la población de memoria existente antes de la infección y la citoquina homeostática respectivamente.

Como en el Modelo 7, consideramos un modelo de homeostasis de los linfocitos de memoria en el que no se incluyen las células naïve. Bajo estas hipótesis, el Modelo 7 puede generalizarse, incluyendo la competencia por el antígeno entre

los clones activados, mediante el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\left\{ \begin{array}{l} \ddot{x}_1(t) = -k_x x_1(t) + \lambda_{yx}^1 \frac{x_1(t)}{x(t)+m(t)} y(t) \\ \vdots \\ \ddot{x}_n(t) = -k_x x_n(t) + \lambda_{yx}^n \frac{x_n(t)}{x(t)+m(t)} y(t) \\ \ddot{m}_1(t) = -k_m m_1(t) - c_m \dot{m}_1(t) + \lambda_{ym}^1 \frac{m_1(t)}{x(t)+m(t)} y(t) + \lambda_H \frac{m_1(t)}{M(t)+m(t)} H(t) \\ \vdots \\ \ddot{m}_n(t) = -k_m m_n(t) - c_m \dot{m}_n(t) + \lambda_{ym}^n \frac{m_n(t)}{x(t)+m(t)} y(t) + \lambda_H \frac{m_n(t)}{M(t)+m(t)} H(t) \\ \ddot{M}(t) = -k_m M(t) - c_m \dot{M}(t) + \lambda_H \frac{M(t)}{M(t)+m(t)} H(t) \\ \dot{H}(t) = \varphi - \mu M(t) - \mu m(t) \\ \dot{y}(t) = \alpha y(t) - \beta x(t)y(t) \end{array} \right. \quad (8.3)$$

donde

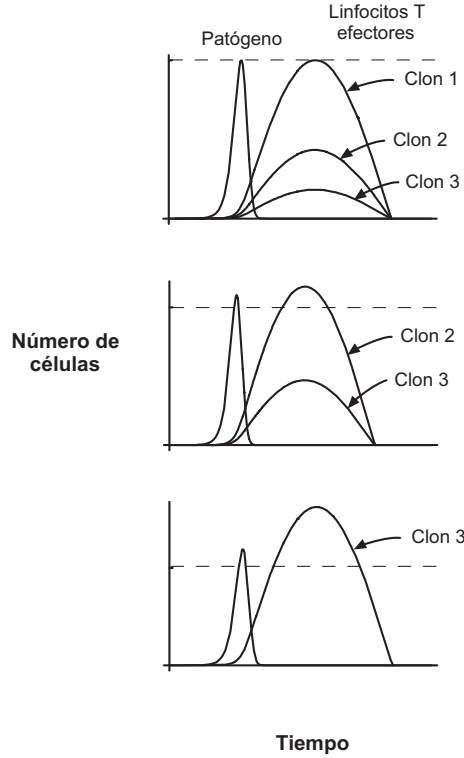
$$x(t) = \sum_{i=1}^n x_i(t) \quad y \quad m(t) = \sum_{i=1}^n m_i(t)$$

Con las condiciones iniciales:

$$\left\{ \begin{array}{l} x(0) = x_0 > 0 \\ \dot{x}(0) = 0 \\ m(0) = m_0 > 0 \\ \dot{m}(0) = 0 \\ M(0) = M^* \\ \dot{M}(0) = 0 \\ H(0) = H^* \\ y(0) = y_0. \end{array} \right. \quad (8.4)$$

Por una parte, los clones de linfocitos efectores y memoria compiten por acceder a la fuerza antigénica, y por otra, los clones de memoria deben competir entre ellos y con los clones preexistentes por la fuerza homeostática. Las diferencias en la afinidad TCR/antígeno en los clones activados se refleja en el modelo en los valores de los parámetros  $\lambda_{yx}^i$  y  $\lambda_{ym}^i$ , para  $i = 1, \dots, n$ .

El Modelo 8 no es más que la generalización natural del Modelo 7, en la que se considera la activación de varios clones de linfocitos, con distintas afinidades por algún antígeno presente en el patógeno. En la figura 8.6 se observa que, de hecho, el Modelo 8 reproduce el fenómeno de la inmunodominancia, sin que éste haya sido implementado explícitamente en el modelo.



**Figura 8.6:** Simulaciones numéricas del Modelo 8. La activación simultánea de 3 clones que difieren su afinidad por alguno de los antígenos presentes en el patógeno da lugar a la aparición de inmunodominancia. Los clones subdominantes son capaces de compensar la ausencia de los clones dominantes y propiciar la eliminación del patógeno. La escala es relativa en las tres figuras, de modo que la línea discontinua señala el máximo alcanzado por el clon dominante en la activación simultánea de los tres clones. Los parámetros usados en la simulación son:  $k_x = 35$ ,  $c_x = 0$ ,  $\lambda_{yx}^1 = 8$ ,  $\lambda_{yx}^2 = 7,5$ ,  $\lambda_{yx}^3 = 7$ ,  $\alpha = 50$ ,  $\beta = ,1$ ,  $y_0 = 1$ ,  $k_m = 50$ ,  $c_m = 30$ ,  $\lambda_{ym}^1 = 9,5$ ,  $\lambda_{ym}^2 = 9$ ,  $\lambda_{ym}^3 = 8,5$ ,  $\lambda_H = ,1$ ,  $\varphi = 10^6$  y  $\mu = 5$ .



## Capítulo 9

### Síntesis

*“As yet, this mathematically theoretical aspect of immunology is even less to be found in textbooks than were mathematical models in ecology texts a generation ago. I venture to predict that the corresponding immunology texts will indeed look different in 20, or even 10, years’ time.”*

Robert May [319]

Para entender el funcionamiento de los linfocitos T CD8+ es necesario considerar dos escalas de explicación complementarias: una escala microscópica o celular, donde tienen lugar los mecanismos que determinan el comportamiento de cada linfocito, y una macroscópica, que es donde puede interpretarse la función del sistema de los linfocitos T en el contexto de la respuesta inmunitaria. Tanto la expansión como la contracción clonal son características macroscópicas del sistema de las células T, ya que son los clones y no las células individuales los que se expanden y contraen. Además, el éxito de la respuesta inmunitaria no depende de la acción de una célula aislada, sino que resulta del comportamiento coherente de toda la población. Recíprocamente, el comportamiento cuantitativo del sistema de los linfocitos T es la manifestación macroscópica de las decisiones individuales de dividirse o morir, tomadas por cada célula en cada momento.

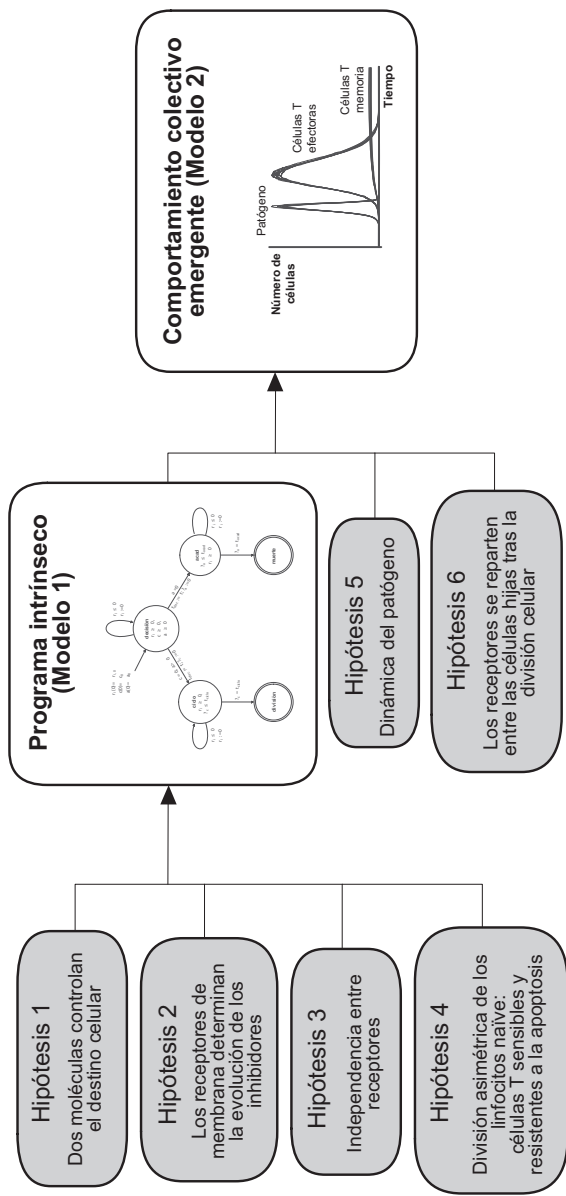
En la primera parte de este trabajo proponemos que el conocimiento disponible en la actualidad sobre la biología de las células T es suficiente para establecer las bases de una teoría capaz de explicar la elección entre la división y la muerte celular por parte de los linfocitos en el curso de una respuesta inmunitaria. Según esta teoría, no sólo el destino individual, sino también el comportamiento de las poblaciones de linfocitos es el resultado de la ejecución de un programa intrínseco en cada célula T, que se pone en funcionamiento

como consecuencia de la sinapsis inmunológica (figura 9.1).

El paradigma del programa intrínseco proporciona el marco teórico adecuado para integrar la información disponible sobre los mecanismos de división y muerte celular en los linfocitos T. Aunque se han descrito muchos detalles sobre el ciclo celular y la apoptosis, éstos no pueden entenderse en su totalidad si no se consideran como elementos complementarios de un mismo programa celular. Esto es lo que ocurre con las proteínas Rb y Bcl-2, de las que se conoce su papel como inhibidores de la progresión del ciclo celular y la apoptosis respectivamente. El simple hecho de asumir que ambas proteínas funcionan en paralelo en las células T proporciona un mecanismo razonable de decisión, tanto del destino como de la duración de la vida, de los linfocitos T: la primera de estas proteínas que alcanza un umbral crítico determina si la célula se divide o muere.

Esta hipótesis permite definir formalmente el programa intrínseco de las células T como el conjunto de procesos que controlan la evolución de los inhibidores de ciclo y apoptosis en las células T, y que acaban provocando la división, la muerte, o la supervivencia del linfocito como célula de memoria. Hay que destacar que, de acuerdo con esta definición, el programa intrínseco no incluye explícitamente ningún aspecto del comportamiento colectivo de las células T. Por tanto, la sucesión de la expansión clonal, la contracción clonal, y la formación de memoria inmunitaria, deben emerger de algún modo a partir de la ejecución del programa en cada linfocito T.

En la primera parte de este trabajo hemos revisado los mecanismos que determinan la dinámica de las proteínas inhibidoras en los linfocitos T. A partir del conocimiento actual de estos mecanismos hemos seleccionado una serie de hipótesis biológicas y las hemos expresado formalmente en términos matemáticos con el fin de integrarlas en el autómata híbrido  $H_T$  que modeliza la vida de una célula T (ver figura 4.3). De acuerdo con este modelo, el destino de cada linfocito depende de un mecanismo de feedback entre los receptores de la membrana de la célula, cuyo único input externo es el número de señales antigénicas recibidas por la célula. Hay que destacar que en el autómata híbrido  $H_T$  no se ha implementado ningún mecanismo de coordinación entre células T, sino que los linfocitos interaccionan exclusivamente a través de la competencia por las moléculas de antígeno disponibles. Esta observación permite formular un modelo poblacional sencillo vinculando la dinámica del patógeno con la evolución de cada autómata híbrido. Para que el modelo poblacional sea completo es necesaria una hipótesis adicional, referida a la relación existente entre el autómata híbrido que modeliza la vida de un linfocito y los autómatas correspondientes a sus células hijas: los receptores de la membrana del linfocito se reparten entre las células hijas después de la división celular. La herencia de los receptores de membrana implica una continuidad en el transcurso de la respuesta inmunitaria de las células T, ya que la situación inicial de cada célula hija es el resultado de la ejecución del programa intrínseco en las células T precursoras.



**Figura 9.1:** Relación entre las hipótesis biológicas sobre el funcionamiento microscópico de los linfocitos T y los modelos propuestos en la primera parte de este trabajo.



Una consecuencia notable de la proliferación de las células T en ausencia del patógeno es que un porcentaje importante de los linfocitos reclutados durante la respuesta inmunológica probablemente nunca se encuentran con el antígeno. De acuerdo con la hipótesis anterior, la experiencia antigénica de un linfocito se transmite mediante el reparto de los receptores de membrana a sus células hijas. En consecuencia, las células hijas pueden seguir dividiéndose independientemente de si encuentran o no moléculas de antígeno.

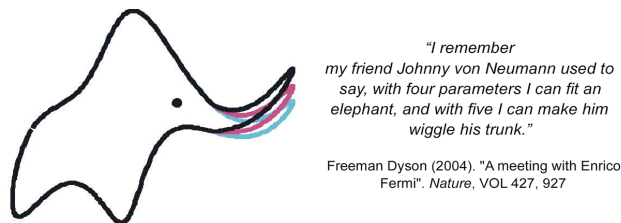
Una versión simple del modelo en la que sólo dos tipos de receptores de membrana controlan la evolución de los inhibidores es suficiente para ilustrar este hecho. Dado que en la actualidad se desconoce incluso el número de citoquinas involucradas en el control del destino de los linfocitos T, no es posible formular una versión completa del programa intrínseco de las células T. Sin embargo, el modelo simplificado propuesto anteriormente tiene la ventaja, frente a un modelo más complejo, de permitir un análisis formal que explica el vínculo causal entre el comportamiento del modelo y las hipótesis biológicas subyacentes (figuras 5.1 y 5.2). El modelo sirve también para mostrar cómo un comportamiento colectivo tan complejo como el que se observa en linfocitos T CD8+ durante la respuesta inmunitaria puede emerger de la ejecución autónoma de un programa simple por parte de cada célula. Además, dado que el comportamiento colectivo emerge de la ejecución autónoma del programa intrínseco en cada linfocito, sin necesidad de ningún mecanismo alternativo de coordinación, el sistema de las células T no debería considerarse como una red de individuos que se comunican mediante citoquinas. Es más, la hipótesis de un mecanismo de coordinación entre linfocitos basado en información generada colectivamente plantea problemas de interferencia intra e interclonales (ver sección 3.3.1).

La respuesta de las células T es específica de un antígeno y no de un patógeno. El antígeno capaz de provocar la activación de un clon de linfocitos T puede estar presente en una gran variedad de agentes patógenos diferentes, que pueden ser muy heterogéneos en aspectos como sus tasas de crecimiento o sus mecanismos de escape del sistema inmunitario. Esto implica que la ejecución del programa intrínseco debería ser fundamentalmente independiente de los acontecimientos que tienen lugar desde la detección del patógeno por parte del sistema inmunitario innato hasta la activación de los linfocitos T naïve, acontecimientos que pueden ser muy distintos dependiendo de la naturaleza de la infección.

Por otra parte, el comportamiento colectivo de las células T que emerge del programa intrínseco debe ser lo suficientemente flexible como para adaptarse a esta gran variedad potencial de patógenos, lo que requiere que las células T sean capaces de dividirse un número variable de veces tras la activación. La modelización matemática del algoritmo de decisión del destino celular demuestra que el número de divisiones no tiene por qué ser una característica prefijada en los linfocitos T, como se ha propuesto, por ejemplo en [35] y [320]), sino que puede ser un resultado emergente del programa intrínseco y variar dependiendo de

los parámetros dinámicos del agente causante de la respuesta (ver figura 5.5). Sin embargo, la flexibilidad en la ejecución del programa puede conseguirse sin exigir que el propio programa sea flexible. Al contrario, el programa está implementado en los genes de cada linfocito y no puede modificarse en función de la naturaleza del agente infeccioso o de la progresión de la infección.

En concordancia con este hecho, el modelo de programa intrínseco propuesto en este trabajo está caracterizado por un conjunto de parámetros estructurales cuyo valor es el mismo para todos los linfocitos de un mismo clon. Estos parámetros representan acontecimientos biológicos explícitos que no cambian a lo largo de la respuesta inmunitaria. El valor de estos parámetros no debería obtenerse mediante el ajuste de los resultados numéricos del modelo a una colección de datos empíricos. En efecto, dado que modelos contradictorios entre sí pueden producir el mismo comportamiento esperado e incluso ajustarse bien a los mismos datos empíricos (ver por ejemplo [151] y [207]), la validez de un modelo no debería probarse mediante la calidad de su ajuste a los datos empíricos (figura 9.2). De hecho, este criterio es válido cuando se dispone de series largas y fiables, cosa que no ocurre habitualmente con las series temporales utilizadas en inmunología, dada la dificultad actual para realizar experimentos dinámicos en inmunología. Al contrario, los parámetros deberían medirse mediante experimentos diseñados específicamente para comprobar la validez de las hipótesis biológicas en las que se apoya el modelo, y no mediante técnicas de ajuste a series de datos.



**Figura 9.2:** Con un número suficiente de parámetros es posible ajustar cualquier cualquier curva. Fuente: Jürgen Mayer, Khaled Khairy, and Jonathan Howard (2010). "Drawing an elephant with four complex parameters". *American Journal of Physics* 78, Issue 6, pp. 648.

Por otra parte, la robustez del modelo (y también del programa intrínseco) no debería definirse en términos de cómo de persistente es la dinámica pro-

ducida por el mismo al variar los parámetros estructurales, sino en términos del rango de parámetros dinámicos del patógeno que dan lugar a una respuesta inmunitaria adecuada. En este trabajo hemos probado que un conjunto fijo de parámetros estructurales puede dar lugar a un comportamiento colectivo robusto y flexible, que se adapta a agentes infecciosos distintos (ver figura 5.4).

El paralelismo entre la respuesta del sistema de las células T y el sistema defensivo de las colonias de insectos sociales pone de manifiesto que comportamientos colectivos análogos pueden emerger a partir de las acciones de agentes individuales muy diferentes. Es evidente que el programa intrínseco de las células T y los mecanismos responsables del comportamiento de los insectos sociales no son comparables. Las hormigas no se dividen, sino que reclutan a otros individuos y tampoco se suicidan una vez neutralizada la amenaza, sino que vuelven al nido, donde todavía pueden ser útiles para la colonia. Una de las diferencias más importantes entre ambos sistemas se refiere a la coordinación de las acciones de los agentes individuales. Así, mientras que la comunicación entre individuos es fundamental en una colonia ??, la coordinación entre células T puede conseguirse sin que exista ningún mecanismo explícito de comunicación celular que involucre a las citoquinas o a otras células inmunitarias. Es más, la hipótesis de un mecanismo de coordinación entre linfocitos basado en información generada colectivamente plantea problemas de interferencia intra e interclonales (ver sección 3.3.1) que implican que las células T no deberían considerarse como una red de individuos que se comunican mediante citoquinas, sino como agentes autónomos que actúan exclusivamente en función de su contacto con el antígeno.

A pesar de las diferencias entre los agentes individuales, ambos sistemas han desarrollado un funcionamiento global equivalente que puede describirse como elástico: la detección de una amenaza aleja al sistema de una situación de equilibrio que vuelve a recuperarse cuando la agresión es neutralizada. La elasticidad del sistema de las células T nos ha servido como punto de partida para formular una teoría de las poblaciones celulares inspirada en la mecánica clásica. La teoría mecánica ofrece una perspectiva complementaria a la del programa intrínseco, ya que no considera explícitamente los mecanismos moleculares responsables de los comportamientos poblacionales observados, sino que expresa el comportamiento colectivo mediante una colección reducida de variables macroscópicas. Así, el tamaño de una población celular se modeliza mediante una variable continua cuya evolución en el tiempo depende de la acción de fuerzas análogas a las fuerzas físicas.

El concepto central de la teoría mecánica es el de población elástica. En la Hipótesis 7 postulamos que las poblaciones de linfocitos son sistemas elásticos cuya evolución en el tiempo puede modelizarse mediante el siguiente sistema de

ecuaciones diferenciales:

$$\begin{cases} \ddot{x}(t) + c\dot{x}(t) + kx(t) = F(t) \\ \dot{F}(t) = f(x, F) \end{cases} \quad (9.1)$$

donde  $x(t)$  es el tamaño de la población en el instante  $t$ ,  $F(t)$  es una fuerza externa,  $c \geq 0$  representa la viscosidad de la población y  $k > 0$  es el coeficiente de elasticidad de la población.

De acuerdo con esta ecuación (válida para  $x(t) \geq 0$ ) las poblaciones de linfocitos tienden a extinguirse en ausencia de fuerzas externas.

El conjunto de fuerzas externas que actúan sobre una población elástica  $x$  constituyen el nicho de la población ( $\mathcal{N}_x$ ). En la Hipótesis 10 postulamos que las fuerzas que actúan sobre una población de linfocitos tienen efectos aditivos:

$$\ddot{x}(t) + c\dot{x}(t) + kx(t) = \sum_{F \in \mathcal{N}_x} \lambda_{Fx} F(t) \quad (9.2)$$

para  $x(t) \geq 0$ .

Para cada fuerza  $F$  del nicho de una población elástica  $x$ , el parámetro  $\lambda_{Fx}$  representa la aceleración inducida en la población por cada unidad de fuerza externa.

Por último, la Hipótesis 11 expresa la interacción entre  $n$  poblaciones elásticas  $(x_1, \dots, x_n)$  que compiten por una fuerza externa  $F$ . Postulamos que, en este caso, la magnitud de la fuerza percibida por la población  $x_i$  ( $F_i$ ) viene dada por:

$$F_i(t) = \frac{x_i(t)}{x_1(t) + \dots + x_n(t)} F(t), \quad \text{para } i = 1, \dots, n. \quad (9.3)$$

Las tres hipótesis anteriores permiten escribir una expresión general para la evolución de  $n$  poblaciones celulares elásticas  $(x_1, \dots, x_n)$  sometidas a la acción de  $m$  fuerzas  $(F_1, \dots, F_m)$ :

$$\begin{cases} \ddot{x}_i(t) + c_i \dot{x}_i(t) + k_i x_i(t) = \sum_{j=1}^m \frac{\delta_{ij} x_i(t)}{\delta_{1j} x_1(t) + \dots + \delta_{nj} x_n(t)} \lambda_{ji} F_j(t) \\ \dot{F}_j(t) = f_j(x_1, \dots, x_n, F_1, \dots, F_m) \\ x_i(0) = x_{i0} \\ \dot{x}_i(0) = v_{i0} \\ F_j(0) = F_{j0} \end{cases} \quad (9.4)$$

para  $i = 1, \dots, n$  y  $j = 1, \dots, m$  y  $\delta_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{si } F_j \in \mathcal{N}_i \\ 0 & \text{si } F_j \notin \mathcal{N}_i \end{cases}$

En particular, en el caso de los linfocitos T, hemos considerado dos tipos de fuerzas: la fuerza antigénica ( $F_y$ ) y la fuerza homeostática ( $F_H$ ), definidas en las Hipótesis 8 y 9 respectivamente.

La fuerza antigénica viene dada por la expresión:

$$\begin{cases} F_y(t) = y(t) \\ \dot{y}(t) = \alpha y(t) - \beta x(t)y(t) \end{cases} \quad (9.5)$$

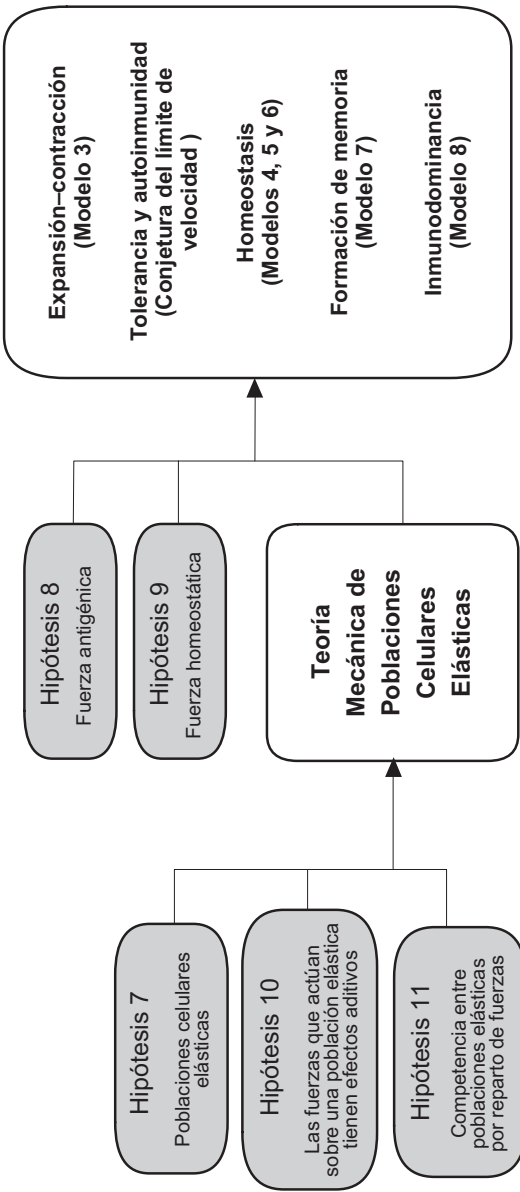
donde  $y(t)$  y  $x(t)$  son el número de patógenos y de linfocitos T respectivamente en el instante  $t$  y  $\alpha$  y  $\beta$  son parámetros positivos.

Por otra parte, si  $H(t)$  es la cantidad de una citoquina homeostática  $H$  en el instante  $t$ , la fuerza homeostática que ejerce sobre una población elástica  $x$  es:

$$\begin{cases} F_H(t) = H(t) \\ \dot{H}(t) = \varphi - \mu x(t) \end{cases} \quad (9.6)$$

con  $\varphi$  y  $\mu$  parámetros estrictamente positivos y con la restricción  $H(t) \geq 0$ .

Este conjunto de hipótesis es suficiente para describir todos los comportamientos macroscópicos observados en los linfocitos T, tanto en el curso de una respuesta inmunitaria, como en ausencia de infecciones (figura 9.3). Fenómenos como la inmunodominancia, la homeostasis o la expansión y la contracción clonal de los linfocitos efectores pueden explicarse como simples consecuencias de la naturaleza elástica de las poblaciones de linfocitos.



**Figura 9.3:** Relación entre las hipótesis de la teoría mecánica de poblaciones y los modelos macroscópicos del funcionamiento de las poblaciones de células T propuestos en la segunda parte de este trabajo.

## 9.1. Conclusiones

Los resultados de este trabajo nos han permitido llegar a las siguientes conclusiones generales:

- La elección entre la división celular y la apoptosis en los linfocitos T CD8+ durante la respuesta inmunitaria a una infección aguda puede explicarse como la consecuencia de la ejecución de un programa celular intrínseco, que se define formalmente como el conjunto de procesos que controlan la evolución de las proteínas Rb y Bcl-2, que inhiben la progresión del ciclo celular y la puesta en marcha del programa de apoptosis en las células T respectivamente.
- El comportamiento colectivo desplegado por los linfocitos T CD8+ durante una infección aguda puede explicarse como el resultado emergente de la ejecución del mismo algoritmo celular que determina las decisiones individuales de dividirse o morir en cada célula T, sin necesidad de ningún mecanismo adicional de comunicación intercelular.
- Los procesos que tienen lugar en el interior de los linfocitos T y que están vinculados con la división y la muerte celular tienen que interpretarse a partir de sus consecuencias sobre el funcionamiento global del sistema durante una respuesta inmunitaria. El paradigma del programa intrínseco vincula explícitamente los mecanismos intracelulares con el comportamiento colectivo y por tanto proporciona un marco teórico en el que interpretar el conocimiento actual sobre los mecanismos que subyacen al ciclo celular y la apoptosis en las células T CD8+.
- La teoría de los autómatas híbridos proporciona una herramienta adecuada para modelizar la relación entre el ciclo celular y el programa de apoptosis en los linfocitos T. La modelización matemática de las hipótesis biológicas no basta para demostrar la validez de éstas, pero es necesaria para mostrar que proporcionan una explicación suficiente sobre el origen del comportamiento macroscópico de los linfocitos T en una infección aguda. Cada una de las hipótesis debería validarse mediante experimentos diseñados específicamente para ello y no a través del ajuste de los modelos propuestos a una colección de datos empíricos.
- La analogía entre las poblaciones de linfocitos T y los sistemas elásticos estudiados por la mecánica clásica permite desarrollar una teoría de las poblaciones celulares en la que incorporar fenómenos descritos en ecología, como la depredación y competencia al ámbito de la inmunología.
- Los modelos desarrollados en el marco de la teoría mecánica de las poblaciones elásticas son capaces de reproducir comportamientos poblacionales

observados en las poblaciones de linfocitos T, como la inmunodominancia o la homeostasis a partir de una colección reducida de hipótesis. Los conceptos de fuerza y aceleración de las poblaciones de linfocitos pueden ser útiles a la hora de entender aspectos relevantes del funcionamiento colectivo de los linfocitos T durante la respuesta inmunitaria.

- El aspecto dinámico del antígeno debería considerarse explícitamente junto con su estructura tridimensional o su rigen genético en la definición del yo inmunológico.





# Apéndice A. Autómatas híbridos

## Definición: Autómata híbrido

Un autómata híbrido  $H$  es una tupla  $H = (Q, X, f, Init, Fin, Dom, E, G, R)$ , donde

- $Q = \{q_1, q_2, \dots\}$  es un conjunto de **estados discretos**;
- $X \subseteq \mathbb{R}^n$  es un conjunto de **estados continuos**;
- $f(\cdot, \cdot) : Q \times X \rightarrow \mathbb{R}^n$  es un **campo vectorial**;
- $Init \subseteq Q \times X$  es el conjunto de **estados iniciales**;
- $Fin \subseteq Q \times X$  es el conjunto de **estados finales**;
- $Dom : Q \rightarrow P(X)$  es un **dominio**;
- $E \subseteq Q \times Q$  es un conjunto de **aristas**;
- $G(\cdot) : E \rightarrow P(X)$  es una **condición de transición**;
- $R(\cdot) : E \times X \rightarrow P(X)$  es una **aplicación de reinicio**.

El espacio de estados de  $H$  es  $Q \times \mathbb{R}^n$ . Cada estado de  $H$  es por tanto de la forma  $(q, x)$ , donde  $q$  es la parte discreta del estado y  $x \in \mathbb{R}^n$  es la parte continua.

De una manera informal podemos definir las trayectorias del autómata híbrido como una concatenación de flujos continuos y saltos discretos que comienzan en alguno de los estados iniciales  $(q_0, x_0) \in Init$ . Desde este estado inicial la evolución del estado continuo  $x$  está determinada por la ecuación diferencial:

$$\begin{cases} \dot{x} = f(q_0, x) \\ x(0) = x_0 \end{cases}$$

mientras que el estado discreto  $q$  permanece constante

$$q(t) = q_0$$

A lo largo de su evolución, el estado continuo  $x$  debe permanecer dentro del conjunto  $Dom(q_0)$ . Si en algún momento  $x$  alcanza el conjunto  $G(q_0, q_1) \subseteq \mathbb{R}^n$  para alguna arista  $(q_0, q_1) \in E$ , el estado discreto cambia al valor  $q_1$ . Al mismo tiempo, el estado continuo pasa a tomar algún valor de  $R(q_0, q_1, x)$ . Tanto la parte discreta como la continua del estado de  $H$  cambian instantáneamente y el proceso comienza de nuevo hasta que se alcanza algún estado  $R(q, x) \in Fin$ .

Asumiremos que para cada  $q \in Q$  la función  $f : Q \times X \rightarrow \mathbb{R}^n$  es suficientemente buena para que las soluciones de la ecuación diferencial  $\dot{x} = f(q, x)$  estén bien definidas. Además, supondremos que para todo  $e \in E$ ,  $G(e) \neq \emptyset$ , y para todo  $x \in G(e)$ ,  $R(e, x) \neq \emptyset$ .

Un autómata híbrido puede representarse mediante un grafo dirigido  $(Q, E)$  de vértices  $Q$  y aristas  $E$ . A cada vértice  $q \in Q$  le asociamos un conjunto de estados iniciales  $\{x \in X : (q, x) \in Init\}$ , un campo vectorial  $f(q, \cdot) : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$  y un dominio  $Dom(q) \subseteq \mathbb{R}^n$ . A cada arista  $(q, q') \in E$  le asociamos una condición de transición  $G(q, q') \subseteq \mathbb{R}^n$  y una función de reinicio  $R(q, q', \cdot) : \mathbb{R}^n \rightarrow P(\mathbb{R}^n)$ .

### Ejemplo: Termostato

Un ejemplo prototípico de sistema híbrido es el de una habitación provista de un radiador controlado por un termostato. La ecuación diferencial que gobierna la evolución de la temperatura en la habitación depende del estado del radiador. Así, cuando el radiador está apagado la temperatura decae exponencialmente según la ecuación:

$$\dot{x} = -0,2x$$

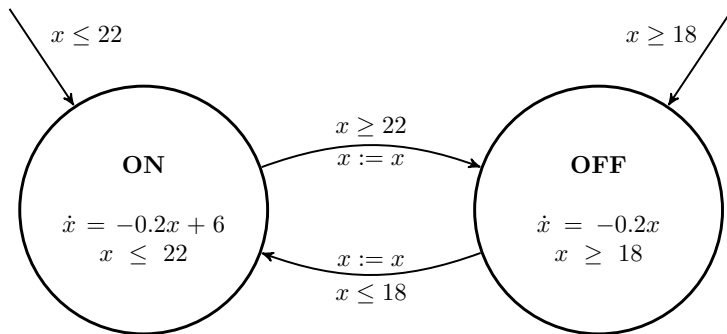
Al contrario, cuando el radiador está encendido, la temperatura evoluciona según la ecuación:

$$\dot{x} = -0,2x + 6$$

Por su parte, el termostato controla el encendido y el apagado del radiador en función de la temperatura de la habitación. Este problema puede simularse mediante el autómata híbrido

$H_T = (Q, X, f, Init, Dom, E, G, R)$ , donde:

- $Q = \{OFF, ON\}$  (dos estados discretos que corresponden a las situaciones en las que la calefacción está apagada y encendida respectivamente);
- $X = \mathbb{R}$  (el estado continuo es la temperatura de la habitación);



**Figura 9.4:** Grafo del autómata híbrido que simula el funcionamiento del sistema de calefacción controlado por un termostato descrito en el texto.

- $f(OFF, x) = -0,2x$   
y  $f(ON, x) = -0,2x + 6$ ;
- $Init = \{(OFF, x) : x \geq 18\} \cup \{(ON, x) : x \leq 22\}$  (son los estados iniciales posibles);
- $Dom(OFF) = \{x \in \mathbb{R} : x \geq 18\}$  y  $Dom(ON) = \{x \in \mathbb{R} : x \leq 22\}$ ;
- $E = \{(OFF, ON), (ON, OFF)\}$ ;
- $G(OFF, ON) = \{x \in \mathbb{R} : x \leq 18\}$  y  $G(ON, OFF) = \{x \in \mathbb{R} : x \geq 22\}$ ;
- $R(e, x) = \{x\}$  para todo  $e \in E$  y todo  $x \in \mathbb{R}$ ;

A continuación vamos a generalizar la definición 9.1 para incluir variables externas o inputs al autómata híbrido, así como la posibilidad de que el estado continuo sea diferente dependiendo del estado discreto. **Definición:**

#### **Autómata híbrido abierto**

Un autómata híbrido abierto  $H$  es una tupla  $H = (Q, X, U, f, Init, Fin, Dom, E, G, R)$ , donde

- $Q = \{q_1, q_2, \dots\}$  es un conjunto de **estados discretos**;
- $X = \bigcup_{q_i \in Q} X(q_i)$ , con  $X(q_i) \subseteq \mathbb{R}^{n_i}$  es un conjunto de **estados continuos**;
- $U \subseteq \mathbb{R}^l$  es el conjunto de **inputs**;
- $f_i(\cdot, \cdot) : X(q_i) \times U \rightarrow \mathbb{R}^{n_i}$  es el **campo vectorial** asociado con el estado  $q_i$ ;

- $Init \subseteq Q \times X$  es el conjunto de **estados iniciales**;
- $Fin \subseteq Q \times X$  es el conjunto de **estados finales**;
- $Dom(q_i) \subseteq X(q_i)$  es el **dominio** asociado con el estado  $q_i$ ;
- $E \subseteq Q \times Q$  es un conjunto de **aristas**;
- $G(\cdot) : E \rightarrow P(X)$  es una **condición de transición**;
- $R(\cdot) : E \times X \rightarrow P(X)$  es una **aplicación de reinicio**.

# Apéndice B. Modelo híbrido de la vida de los linfocitos T

La vida de los linfocitos T puede modelizarse mediante el autómata híbrido abierto  $H_m = (Q, X, U, f, Init, Fin, Dom, E, G, R)$ , donde

- $Q = \{\text{decisión}, \text{ciclo}, \text{apoptosis}, \text{división}, \text{muerte}\}$  (estados discretos que corresponden a las fases de la vida del linfocito definidas en la página 47 junto con los estados finales de **división** y **muerte**);
- $X(\text{decisión}) = \mathbb{R}_+^k \times \mathbb{R}_+^2;$   
 $X(\text{ciclo}) = \mathbb{R}_+^k \times \mathbb{R}_+;$   
 $X(\text{apoptosis}) = \mathbb{R}_+^k;$   
 $X(\text{división}) = \mathbb{R}_+^k;$   
 $X(\text{muerte}) = \mathbb{R}_+^k;$
- $U = \mathbb{R}_+;$
- $f_{\text{decisión}}(\mathbf{x}, r_T) = A_d \cdot \mathbf{x} + B_d \cdot r_T;$   
 $f_{\text{ciclo}}(\mathbf{x}, r_T) = A_c \cdot \mathbf{x} + B_c \cdot r_T;$   
 $f_{\text{apoptosis}}(\mathbf{x}, r_T) = A_c \cdot \mathbf{x} + B_c \cdot r_T;$   
 $f_{\text{división}}(\mathbf{x}, r_T) = 0;$   
 $f_{\text{muerte}}(\mathbf{x}, r_T) = 0.$

donde:

$$A_d = \begin{pmatrix} \lambda_{11} & \cdots & \lambda_{k1} & 0 & 0 \\ \vdots & & \vdots & \vdots & \vdots \\ \lambda_{1k} & \cdots & \lambda_{kk} & 0 & 0 \\ \mu_{1c} & \cdots & \mu_{kc} & 0 & 0 \\ \mu_{1a} & \cdots & \mu_{ka} & 0 & 0 \end{pmatrix}, B_d = \begin{pmatrix} \lambda_{T1} \\ \vdots \\ \lambda_{Tk} \\ \mu_{Tc} \\ \mu_{Ta} \end{pmatrix},$$

$$A_c = \begin{pmatrix} \lambda_{11} & \cdots & \lambda_{k1} & 0 \\ \vdots & & \vdots & \vdots \\ \lambda_{1k} & \cdots & \lambda_{kk} & 0 \end{pmatrix} \text{ y } B_d = \begin{pmatrix} \lambda_{T1} \\ \vdots \\ \lambda_{Tk} \\ 1 \end{pmatrix}.$$

siendo  $\lambda_{\cdot, \cdot}$  y  $\mu_{\cdot, \cdot}$  parámetros que dependen del tipo celular y  $r_T$  las señales TCR que recibe el linfocito T.

- $Init = \{(\text{decisión}, (r_1, \dots, r_k; c_0, a_0)) : r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\}$  (son los estados iniciales posibles);
- $Fin = \{(\text{división}, (r_1, \dots, r_k)) : r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\} \cup \{(\text{muerte}, (r_1, \dots, r_k)) : r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\};$
- $Dom(\text{decisión}) =$

$$= \{(r_1, \dots, r_k; c, a) : c \geq 0, a \geq 0, r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\};$$

$$Dom(\text{ciclo}) = \{(r_1, \dots, r_k; \tau_c) : \tau \leq t_{ciclo}, r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\};$$

$$Dom(\text{apoptosis}) = \{(r_1, \dots, r_k; \tau) : \tau \leq t_{apo}, r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\};$$

- $E = \{(\text{decisión}, \text{ciclo}), (\text{decisión}, \text{apoptosis}), (\text{decisión}, \text{decisión}), (\text{ciclo}, \text{ciclo}), (\text{ciclo}, \text{división}), (\text{apoptosis}, \text{apoptosis}), (\text{apoptosis}, \text{muerte})\}; G(\text{decisión}, \text{ciclo}) =$
- $= \{(r_1, \dots, r_k; 0, a) : a > 0, r_i \geq 0 \text{ para } i = 1, \dots, k\};$

$$G(\text{decisión}, \text{apoptosis}) = \{(r_1, \dots, r_k; c, 0) : r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\};$$

$$G(\text{decisión}, \text{decisión}) =$$

$$= \{(r_1, \dots, r_k; c, a) : r_i \leq 0 \text{ para algún } i = 1, \dots, k\};$$

$$G(\text{ciclo}, \text{ciclo}) =$$

$$= \{(r_1, \dots, r_k; \tau_c) : r_i \leq 0 \text{ para algún } i = 1, \dots, k\};$$

$$G(\text{ciclo}, \text{división}) = \{(r_1, \dots, r_k; t_{ciclo}) : r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\};$$

$$G(\text{apoptosis}, \text{muerte}) = \{(r_1, \dots, r_k; t_{apo}) : r_i \geq 0, i = 1, \dots, k\}.$$

- $R(\text{decisión}, \text{ciclo}, (r_1, \dots, r_k; 0, a)) = \{(r_1, \dots, r_k; 0)\};$

$$R(\text{decisión}, \text{apoptosis}, (r_1, \dots, r_k; c, 0)) = \{0\};$$

$$\begin{aligned} R(\text{decisión}, \text{decisión}, (r_1, \dots, r_i, \dots, r_k; c, a)) = \\ = \{(r_1, \dots, 0, \dots, r_k; c, a)\}; \end{aligned}$$

$$R(\text{ciclo}, \text{ciclo}, (r_1, \dots, r_i, \dots, r_k; \tau)) = \{(r_1, \dots, 0, \dots, r_k; \tau)\};$$

$$R(\text{apoptosis}, \text{apoptosis}, (r_1, \dots, r_i, \dots, r_k; \tau)) = \{(r_1, \dots, 0, \dots, r_k; \tau)\};$$





## Capítulo 10

# Apéndice C. Equilibrio del Modelo 4

Reescalando el tiempo (mediante el cambio de  $t$  por  $\tilde{t} = \frac{t}{c}$ ) obtenemos la versión adimensional de las ecuaciones 7.2:

$$\begin{cases} \ddot{\tilde{M}}(\tilde{t}) = -\tilde{k}_m \tilde{M}(\tilde{t}) - \dot{\tilde{M}}(\tilde{t}) + \tilde{\lambda}_H \tilde{H}(\tilde{t}) \\ \dot{\tilde{H}}(\tilde{t}) = 1 - \tilde{M}(\tilde{t}) \end{cases} \quad (10.1)$$

con

$$\tilde{k}_m = \frac{k_m}{c^2} \quad \text{y} \quad \tilde{\lambda}_H = \frac{\mu \lambda_H}{c^3}.$$

El sistema de ecuaciones 10.1 se encuentra en equilibrio para:

$$\tilde{M}^* = 1 \quad \text{y} \quad \tilde{H}^* = \frac{\tilde{k}_m}{\tilde{\lambda}_H}.$$

La naturaleza de este equilibrio está determinada por los autovalores de la matriz:

$$A = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 \\ -\tilde{k}_m & -1 & \tilde{\lambda}_H \\ -1 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

Así, si la parte real de los autovalores de  $A$  es negativa, el sistema es asintóticamente estable. Por tanto, la condición siguiente asegura la estabilidad asintótica del sistema:

$$\tilde{k}_m \geq \frac{1}{3} \quad \text{y} \quad \tilde{\lambda}_H \leq \tilde{k}_m.$$



# Bibliografía

- [1] Gowans, J. L. (1996) The lymphocyte - A disgraceful gap in medical knowledge. *Immunology Today*. **17** (6): 288-291.
- [2] Chandran S. S.; Verhoeven D.; Teijaro J. R.; Fenton M. J. and Farber D. L. (2009) TLR2 engagement on dendritic cells promotes high frequency effector and memory CD4 T cell responses. *J Immunol*. **183** (12): 7832-41.
- [3] Aderem, A. and Ulevitch, R. J. (2000) Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*. **406** (6797): 782-787.
- [4] Pasare C. and Medzhitov R. (2003) Toll pathway-dependent blockade of CD4(+)CD25(+) T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science*. **299** (5609): 1033-1036.
- [5] Hugues S.; Fetler L.; Bonifaz L.; Helft J.; Amblard F. and Amigorena S. (2004) Distinct T cell dynamics in lymph nodes during the induction of tolerance and immunity. *Nat Immunol*. **5** (12): 1235-42.
- [6] Fooksman D. R.; Vardhana S.; Vasiliver-Shamis G.; Liese J.; Blair D. A.; Waite J.; Sacristan C.; Victor G. D.; Zanin-Zhorov A. and Dustin M. L. (2010) Functional anatomy of T cell activation and synapse formation. *Annu Rev Immunol*. **28**: 79-105.
- [7] Arens R. and Schoenberger S. P. (2010) Plasticity in programming of effector and memory CD8 T-cell formation. *Immunol Rev*. **235** (1): 190-205.
- [8] Nel A. E. (2002) T-cell activation through the antigen receptor. Part 1: Signaling components signaling pathways and signal integration at the T-cell antigen receptor synapse. *J Allergy Clin Immun*. **109** (5): 758-770.
- [9] Mugnier B.; Nal B.; Verthuy C.; Boyer C.; Lam D.; Chasson L.; Nieoullon V.; Chazal G.; Guo X. J.; He H. T.; Rueff-Juy D.; Alcover A. and Ferrier P. (2008) Coronin-1A Links Cytoskeleton Dynamics to TCR alpha beta-Induced Cell Signaling. *Plos One*. **3** (10): e3467.
- [10] Oliaro, J. *et al.* (2010) Asymmetric Cell Division of T Cells upon Antigen Presentation Uses Multiple Conserved Mechanisms. *J Immunol*. **185** (1): 367-375.
- [11] Glimcher L. H.; Townsend M. J.; Sullivan B. M. and Lord G. M. (2004) Recent developments in the transcriptional regulation of cytolytic effector cells. *Nat Rev Immunol*. **4** (11): 900-911.
- [12] Andrew, S. M.; Baker, C. T. H. and Bocharov, G. A. (2007) Rival approaches to mathematical modelling in immunology. *J Comput Appl Math*. **205** (2): 669-686.
- [13] Obar, J. J. and Lefrancois, L. (2010) Memory CD8(+) T cell differentiation. *Immunology*. **2** (1183): 251-266.
- [14] Ahmad S. (2007) T-cell responses - Frequency variation is the spice of life. *Nat Rev Immunol*. **7** (10): 748-748.

- [15] Surh C. D. and Sprent J. (2008) Homeostasis of naive and memory T cells. *Immunity*. **29** (6): 848-62.
- [16] Blattman J. N.; Antia R.; Sourdive D. J. D.; Wang X. C.; Kaech S. M.; Murali-Krishna K.; Altman J. D. and Ahmed R. (2002) Estimating the precursor frequency of naive antigen-specific CD8 T cells. *J Exp Med*. **195** (5): 657-664.
- [17] Cahalan M. D. and Gutman G. A. (2006) The sense of place in the immune system. *Nat Immunol*. **7** (4): 329-32.
- [18] Bousso P. and Robey E. (2003) Dynamics of CD8(+) T cell priming by dendritic cells in intact lymph nodes. *Nat Immunol*. **4** (6): 579-585.
- [19] Miller M. J.; Hejazi A. S.; Wei S. H.; Cahalan M. D. and Parker I. (2004) T cell repertoire scanning is promoted by dynamic dendritic cell behavior and random T cell motility in the lymph node. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **101** (4): 998-1003.
- [20] Miller J. D.; van der Most R. G.; Akondy R. S.; Glidewell J. T.; Albott S.; Masopust D.; Murali-Krishna K.; Mahar P. L.; Edupuganti S.; Lalor S.; Germon S.; Del Rio C.; Mulligan M. J.; Staprans S. I.; Altman J. D.; Feinberg M. B. and Ahmed R. (2008) Human effector and memory CD8(+) T cell responses to smallpox and yellow fever vaccines. *Immunity*. **28** (5): 710-722.
- [21] Marrack P. and Kappler J. (2004) Control of T cell viability. *Annu Rev Immunol*. **22**: 765-787.
- [22] Lenardo M.; Chan F. K. M.; Hornung F.; McFarland H.; Siegel R.; Wang J. and Zheng L. X. (1999) Mature T lymphocyte apoptosis - Immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu Rev Immunol*. **17**: 221-253.
- [23] Tripathi P. and Hildeman D. (2004) Sensitization of T cells to apoptosis - A role for ROS?. *Apoptosis*. **9** (5): 515-523.
- [24] Williams M. A. and Bevan M. J. (2004) Shortening the infectious period does not alter expansion of CD8 T cells but diminishes their capacity to differentiate into memory cells. *J Immunol*. **173** (11): 6694-6702.
- [25] Zanetti M. (2007) Immunity and protection the unfolding of a tale. *Immunol Res*. **38** (1-3): 305-18.
- [26] Lefrancois L. (2006) Development trafficking and function of memory T-cell subsets. *Immunol Rev*. **211**: 93-103.
- [27] Lezzi G.; Karjalainen K. and Lanzavecchia A. (1998) The duration of antigenic stimulation determines the fate of naive and effector T cells. *Immunity*. **8** (1): 89-95.
- [28] Rocha B. and Tanchot C. (2006) The Tower of Babel of CD8(+) T-cell memory: known facts deserted roads muddy waters and possible dead ends. *Immunol Rev*. **211**: 182-196.
- [29] Grayson J. M.; Harrington L. E.; Lanier J. G.; Wherry E. J. and Ahmed R. (2002) Differential sensitivity of naive and memory CD8(+) T cells to apoptosis in vivo. *J Immunol*. **169** (7): 3760-3770.
- [30] Migliccio M.; Alves P. M.; Romero P. and Rufer N. (2006) Distinct mechanisms control human naive and antigen-experienced CD8+ T lymphocyte proliferation. *J Immunol*. **176** (4): 2173-82.
- [31] Veiga-Fernandes H.; Walter U.; Bourgeois C.; McLean A. and Rocha B. (2000) Response of naive and memory CD8(+) T cells to antigen stimulation in vivo. *Nat Immunol*. **1** (1): 47-53.
- [32] Badovinac V. P.; Messingham K. A. N.; Hamilton S. E. and Harty J. T. (2003) Regulation of CD8(+) T cells undergoing primary and secondary responses to infection in the same host. *J Immunol*. **170** (10): 4933-4942.
- [33] Kemball C. C.; Harkins S. and Whitton J. L. (2008) Enumeration and functional evaluation of virus-specific CD4(+) and CD8(+) T cells in lymphoid and peripheral sites of coxsackievirus B3 infection. *J Virol*. **82** (9): 4331-4342.

- [34] Carrio, R. and Bathe, O. F. and Malek, T. R. (2004) Initial antigen encounter programs CD8(+) T cells competent to develop into memory cells that are activated in an antigen-free, IL-7- and IL-15-rich environment. *J Immunol.* **172** (12): 7315-7323.
- [35] Kaech S. M. and Ahmed R. (2001) Memory CD8(+) T cell differentiation: initial antigen encounter triggers a developmental program in naive cells. *Nat Immunol.* **2** (5): 415-422.
- [36] Haefner James W. (1996) *Modeling biological systems principles and applications*. Chapman & Hall International Thomson publ.. New York, Albany, Paris.
- [37] Alberts, B. (2008) *Molecular biology of the cell*. Garland Science. New York.
- [38] Komada Y.; Zhou Y. W.; Zhang X. L.; Xue H. L.; Sakai H.; Tanaka S.; Sakatoku H. and Sakurai M. (1995) Fas Receptor (Cd95)-Mediated Apoptosis Is Induced in Leukemic-Cells Entering G1b Compartment of the Cell-Cycle. *Blood.* **86** (10): 3848-3860.
- [39] Burdon T.; Smith A. and Savatier P. (2002) Signalling cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells. *Trends Cell Biol.* **12** (9): 432-8.
- [40] Li Q. S.; Tanaka S.; Kisenge R. R.; Toyoda H.; Azuma E. and Komada Y. (2000) Activation-induced T cell death occurs at G1A phase of the cell cycle. *European J Immunol.* **30** (11): 3329-3337.
- [41] Evan G. I.; Brown L.; Whyte M. and Harrington E. (1995) Apoptosis and the cell cycle. *Curr Opin Cell Biol.* **7** (6): 825-34.
- [42] Mazel S.; Burtrum D. and Petrie H. T. (1996) Regulation of cell division cycle progression by bcl-2 expression: a potential mechanism for inhibition of programmed cell death. *J Exp Med.* **183** (5): 2219-26.
- [43] Weinberg Robert A. (2007) *The biology of cancer*. Garland Science. New York.
- [44] Janeway Charles (2005) *Immunobiology: the immune system in health and disease*. Garland Science. New York.
- [45] Weinberg R. A. (1995) The Retinoblastoma Protein and Cell-Cycle Control. *Cell.* **81** (3): 323-330.
- [46] Maddika S.; Ande S. R.; Panigrahi S.; Paranjothy T.; Weglarczyk K.; Zuse A.; Eshraghi M.; Manda K. D.; Wiechec E. and Los M. (2007) Cell survival cell death and cell cycle pathways are interconnected: Implications for cancer therapy. *Drug Resist Update.* **10** (1-2): 13-29.
- [47] Yoon H.; Kim T. S. and Braciale T. J. (2010) The cell cycle time of CD8+ T cells responding in vivo is controlled by the type of antigenic stimulus. *PLoS One.* **5** (11): e15423.
- [48] Hallstrom T. C. and Nevins J. R. (2009) Balancing the decision of cell proliferation and cell fate. *Cell Cycle.* **8** (4): 532-5.
- [49] Infante A.; Laresgoiti U.; Fernandez-Rueda J.; Fullaondo A.; Galan J.; Diaz-Uriarte R.; Malumbres M.; Field S. J. and Zubiaga A. M. (2008) E2F2 represses cell cycle regulators to maintain quiescence. *Cell Cycle.* **7** (24): 3915-27.
- [50] Stahl M.; Dijkers P. F.; Kops G. J. P. L.; Lens S. M. A.; Coffey P. J.; Burgering B. M. T. and Medema R. H. (2002) The forkhead transcription factor FoxO regulates transcription of p27(Kip1) and bim in response to IL-2. *J Immunol.* **168** (10): 5024-5031.
- [51] Knudsen E. S. and Knudsen K. E. (2006) Retinoblastoma tumor suppressor: Where cancer meets the cell cycle. *Exp Biol Med.* **231** (7): 1271-1281.
- [52] Siegel R. M. (2006) Caspases at the crossroads of immune-cell life and death. *Nat Rev Immunol.* **6** (4): 308-17.
- [53] Hildeman D.; Jorgensen T.; Kappler J. and Marrack P. (2007) Apoptosis and the homeostatic control of immune responses. *Curr Opin Immunol.* **19** (5): 516-521.
- [54] Fas S. C.; Baumann S.; Krueger A.; Frey C. R.; Schulze-Bergkamen H.; Brenner D.; Stumpf C.; Kappes K. and Krammer P. H. (2006) In vitro generated human memory-like T cells are CD95 type II cells and resistant towards CD95-mediated apoptosis. *European J Immunol.* **36** (11): 2894-2903.

- [55] Plas D. R.; Rathmell J. C. and Thompson C. B. (2002) Homeostatic control of lymphocyte survival: potential origins and implications. *Nat Immunol.* **3** (6): 515-521.
- [56] Wojciechowski S.; Tripathi P.; Bourdeau T.; Acero L.; Grimes H. L.; Katz J. D.; Finkelmann F. D. and Hildeman D. A. (2007) Bim/Bcl-2 balance is critical for maintaining naive and memory T cell homeostasis. *J Exp Med.* **204** (7): 1665-75.
- [57] Zhu Y. N.; Swanson B. J.; Wang M.; Hildeman D. A.; Schaefer B. C.; Liu X. Q.; Suzuki H.; Mihara K.; Kappler J. and Marrack P. (2004) Constitutive association of the proapoptotic protein Bim with Bcl-2-related proteins on mitochondria in T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **101** (20): 7681-7686.
- [58] Hughes P. D.; Belz G. T.; Fortner K. A.; Budd R. C.; Strasser A. and Bouillet P. (2008) Apoptosis regulators Fas and Bim cooperate in shutdown of chronic immune responses and prevention of autoimmunity. *Immunity.* **28** (2): 197-205.
- [59] Tischner D.; Woess C.; Ottina E. and Villunger A. (2010) Bcl-2-regulated cell death signalling in the prevention of autoimmunity. *Cell Death Dis.* **1** (6): e48.
- [60] Strasser A.; Jost P. J. and Nagata S. (2009) The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. *Immunity.* **30** (2): 180-92.
- [61] Lopes A. R.; Kellam P.; Das A.; Dunn C.; Kwan A.; Turner J.; Peppas D.; Gilson R. J.; Gehring A.; Bertolotti A. and Maini M. K. (2008) Bim-mediated deletion of antigen-specific CD8 T cells in patients unable to control HBV infection. *J Clin Invest.* **118** (5): 1835-45.
- [62] Chao D. T. and Korsmeyer S. J. (1998) Bcl-2 Family: Regulators of Cell Death. *Annu Rev Immunol.* **16**: 395-419.
- [63] van Delft, M. F. and Huang, D. C. (2006) How the Bcl-2 family of proteins interact to regulate apoptosis. *Cell Res.* **16** (2): 203-13.
- [64] Arnold R.; Brenner D.; Becker M.; Frey C. R. and Krammer P. H. (2006) How T lymphocytes switch between life and death. *Eur J Immunol.* **36** (7): 1654-8.
- [65] Crispe I. N. (1999) Death and destruction of activated T lymphocytes. *Immunol Res.* **19** (2-3): 143-157.
- [66] Dao T.; Huleatt J. W.; Hingorani R. and Crispe I. N. (1997) Specific resistance of T cells to CD95-induced apoptosis during S phase of the cell cycle. *J Immunol.* **159** (9): 4261-7.
- [67] Duprez L.; Wirawan E.; Vanden Berghe T. and Vandenabeele P. (2009) Major cell death pathways at a glance. *Microbes Infect.* **11** (13): 1050-62.
- [68] Strasser A.; Puthalakath H.; O'Reilly L. A. and Bouillet P. (2008) What do we know about the mechanisms of elimination of autoreactive T and B cells and what challenges remain. *Immunol Cell Biol.* **86** (1): 57-66.
- [69] Hand T. W. and Kaech S. M. (2009) Intrinsic and extrinsic control of effector T cell survival and memory T cell development. *Immunol Res.* **45** (1): 46-61.
- [70] Youle R. J. and Strasser A. (2008) The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol.* **9** (1): 47-59.
- [71] Hua Z. C.; Sohn S. J.; Kang C. H.; Cado D. and Winoto A. (2003) A function of Fas-associated death domain protein in cell cycle progression localized to a single amino acid at its C-terminal region. *Immunity.* **18** (4): 513-521.
- [72] Sangfelt O.; Erickson S.; Castro J.; Heiden T.; Einhorn S. and Grandér D. (1997) Induction of apoptosis and inhibition of cell growth are independent responses to interferon-alpha in hematopoietic cell lines. *Cell Growth Differ.* **8** (3): 343-352.
- [73] Siegel R. M. (2006) Caspases at the crossroads of immune-cell life and death. *Nat Rev Immunol.* **6** (4): 308-317.
- [74] Gett A. V. and Hodgkin P. D. (2000) A cellular calculus for signal integration by T cells. *Nat Immunol.* **1** (3): 239-44.

- [75] Wissinger, E. L.; Stevens, W. W.; Varga, S. M. and Braciale, T. J. (2008) Proliferative expansion and acquisition of effector activity by memory CD4(+) T cells in the lungs following pulmonary virus infection. *J Immunol.* **180** (5): 2957-2966.
- [76] Smith K. A. (2005) Determining to divide: How do cells decide?. *J Biol Phys.* **31** (3-4): 261-272.
- [77] Rehm M.; Huber H. J.; Dussmann H. and Prehn J. H. M. (2006) Systems analysis of effector caspase activation and its control by X-linked inhibitor of apoptosis protein. *Embo J.* **25** (18): 4338-4349.
- [78] Smith Kendall A. (2010) *The quantal theory of immunity : the molecular basis of autoimmunity and leukemia*. World Scientific. Hackensack NJ.
- [79] Fraser C.; Ferguson N. M.; de Wolf F.; Ghani A. C.; Garnett G. R. and Anderson R. M. (2002) Antigen-driven T-cell turnover. *J Theor Biol.* **219** (2): 177-192.
- [80] Bernard S.; Pujo-Menjouet L. and Mackey M. C. (2003) Analysis of cell kinetics using a cell division marker: Mathematical modeling of experimental data. *Biophys J.* **84** (5): 3414-3424.
- [81] Yates A.; Chan C.; Strid J.; Moon S.; Callard R.; George A. J. T. and Stark J. (2007) Reconstruction of cell population dynamics using CFSE. *Bmc Bioinformatics.* **8** (-): 197OE
- [82] Kimmel M.; Traganos F. and Darzynkiewicz Z. (1983) Do All Daughter Cells Enter the Indeterminate (a) State of the Cell Cycle - Analysis of Stathmokinetic Experiments on L1210-Cells. *Cytometry.* **4** (3): 191-201.
- [83] Hawkins E. D.; Turner M. L.; Dowling M. R.; van Gend C. and Hodgkin P. D. (2007) A model of immune regulation as a consequence of randomized lymphocyte division and death times. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **104** (12): 5032-5037.
- [84] Combarnous, Y. (2004) *Communications et signalisations cellulaires*. Éd. Tec & doc. Paris, Londres, New York.
- [85] Krauss G. (2003) *Biochemistry of signal transduction and regulation*. Wiley-VCH. Weinheim; Great Britain.
- [86] Thomson Angus W. (1998) *The cytokine handbook*. Academic Press. San Diego Calif..
- [87] Malek T. R. (2008) The biology of interleukin-2. *Annu Rev Immunol.* **26** (453-79): Malek
- [88] Sato N.; Patel H. J.; Waldmann T. A. and Tagaya Y. (2007) The IL-15/IL-15Ralpha on cell surfaces enables sustained IL-15 activity and contributes to the long survival of CD8 memory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **104** (2): 588-93.
- [89] Osborne L. C.; Dhanji S.; Snow J. W.; Priatel J. J.; Ma M. C.; Miners M. J.; Teh H. S.; Goldsmith M. A. and Abraham N. (2007) Impaired CD8 T cell memory and CD4 T cell primary responses in IL-7R alpha mutant mice. *J Exp Med.* **204** (3): 619-31.
- [90] Marks-Konczalik J.; Dubois S.; Losi J. M.; Sabzevari H.; Yamada N.; Feigenbaum L.; Waldmann T. A. and Tagaya Y. (2000) IL-2-induced activation-induced cell death is inhibited in IL-15 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **97** (21): 11445-11450.
- [91] Leung D. T. M.; Morefield S. and Willerford D. M. (2000) Regulation of lymphoid homeostasis by IL-2 receptor signals in vivo. *J Immunol.* **164** (7): 3527-3534.
- [92] Surh C. D.; Boyman O.; Purton J. F. and Sprent J. (2006) Homeostasis of memory T cells. *Immunol Rev.* **211**: 154-163.
- [93] Boyman O.; Purton J. F.; Surh C. D. and Sprent J. (2007) Cytokines and T-cell homeostasis. *Curr Opin Immunol.* **19** (3): 320-6.
- [94] Desbarats J.; Wade T.; Wade W. F. and Newell M. K. (1999) Dichotomy between naive and memory CD4(+) T cell responses to Fas engagement. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **96** (14): 8104-8109.



- [95] Robertson J. M.; MacLeod M.; Marsden V. S.; Kappler J. W. and Marrack P. (2006) Not all CD4(+) memory T cells are long lived. *Immunol Rev.* **211**: 49-57.
- [96] Holtzman M. J.; Green J. M.; Jayaraman S. and Arch R. H. (2000) Regulation of T cell apoptosis. *Apoptosis.* **5** (5): 459-471.
- [97] Vella A.; Teague T. K.; Ihle J.; Kappler J. and Marrack P. (1997) Interleukin 4 (IL-4) or IL-7 prevents the death of resting T cells: Stat6 is probably not required for the effect of IL-4. *J Exp Med.* **186** (2): 325-330.
- [98] Gonzalez J.; Harris T.; Childs G. and Prystowsky M. B. (2001) Rapamycin blocks IL-2-driven T cell cycle progression while preserving T cell survival. *Blood Cell Mol Dis.* **27** (3): 572-585.
- [99] Tomiyama H.; Takata H.; Matsuda T. and Takiguchi M. (2004) Phenotypic classification of human CD8(+) T cells reflecting their function: inverse correlation between quantitative expression of CD27 and cytotoxic effector function. *European J Immunol.* **34** (4): 999-1010.
- [100] Ohnuma K.; Ishii T.; Iwata S.; Hosono O.; Kawasaki H.; Uchiyama M.; Tanaka H.; Yamochi T.; Dang N. H. and Morimoto C. (2002) G1/S cell cycle arrest provoked in human T cells by antibody to CD26. *Immunology.* **107** (3): 325-333.
- [101] Dai Z.; Arakelov A.; Wagener M.; Konieczny B. T. and Lakkis F. G. (1999) The role of the common cytokine receptor gamma-chain in regulating IL-2-dependent activation-induced CD8+ T cell death. *J Immunol.* **163** (6): 3131-7.
- [102] Marleau A. M. and Sarvetnick N. (2005) T cell homeostasis in tolerance and immunity. *J Leukoc Biol.* **78** (3): 575-84.
- [103] Jiang Q.; Li W. Q.; Aiello F. B.; Maz-zuchelli R.; Asefa B.; Khaled A. R. and Durum S. K. (2005) Cell biology of IL-7 a key lymphotrophin. *Cytokine Growth F Rev.* **16** (4-5): 513-533.
- [104] Quelle F. W. (2007) Cytokine signaling to the cell cycle. *Immunol Res.* **39** (1-3): 173-184.
- [105] Song J. X.; Salek-Ardakani S.; So T. and Croft M. (2007) The kinases aurora B and mTOR regulate the G1-S cell cycle progression of T lymphocytes. *Nat Immunol.* **8** (1): 64-73.
- [106] Wardle E. N. (2009) *Guide to signal pathways in immune cells.* Springer Verlag. New York.
- [107] Buckland J. (2004) Immune responses - Helping T cells to relax and interact. *Nat Rev Immunol.* **4** (3): 166-167.
- [108] Allan M. J.; Callard R.; Stark J. and Yates A. (2004) Comparing antigen-independent mechanisms of T cell regulation. *J Theor Biol.* **228** (1): 81-95.
- [109] ElKassar, N. and Gress, R. E. (2010) An overview of IL-7 biology and its use in immunotherapy. *J Immunotoxicol.* **7** (1): 1-7.
- [110] Chetoui, N.; Boisvert, M.; Gendron, S. and Aoudjit, F. (2010) Interleukin-7 promotes the survival of human CD4+effector/memory T cells by up-regulating Bcl-2 proteins and activating the JAK/STAT signalling pathway. *Immunology.* **130** (3): 418-426.
- [111] Yajima T.; Yoshihara K.; Nakazato K.; Kumabe S.; Koyasu S.; Sad S.; Shen H.; Kuwano H. and Yoshikai Y. (2006) IL-15 regulates CD8+ T cell contraction during primary infection. *J Immunol.* **176** (1): 507-15.
- [112] Weant A. E.; Michalek R. D.; Khan I. U.; Holbrook B. C.; Willingham M. C. and Grayson J. M. (2008) Apoptosis regulators bim and fas function concurrently to control autoimmunity and CD8(+) T cell contraction. *Immunity.* **28** (2): 218-230.
- [113] Janssen E. M.; Droin N. M.; Lemmens E. E.; Pinkoski M. J.; Bensinger S. J.; Ehst B. D.; Griffith T. S.; Green D. R. and Schoenberger S. P. (2005) CD4(+) T-cell help controls CD8(+) T-cell memory via TRAIL-mediated activation-induced cell death. *Nature.* **434** (7029): 88-93.
- [114] Sun J. C.; Lehar S. M. and Bevan M. J. (2006) Augmented IL-7 signaling during

- viral infection drives greater expansion of effector T cells but does not enhance memory. *J Immunol.* **177** (7): 4458-63.
- [115] Tripathi P.; Mitchell T. C.; Finkelman F. and Hildeman D. A. (2007) Cutting edge: Limiting amounts of IL-7 do not control contraction of CD4(+) T cell responses. *J Immunol.* **178** (7): 4027-4031.
- [116] Tuma, R. A. and Pamer, E. G. (2002) Homeostasis of naive, effector and memory CD8 T cells. *Curr Opin Immunol.* **14** (3): 348-353.
- [117] Sun, J. C. and Lehar, S. M. and Bevan, M. J. (2006) Augmented IL-7 signaling during viral infection drives greater expansion of effector T cells but does not enhance memory. *J Immunol.* **177** (7): 4458-4463.
- [118] Tan J. T.; Ernst B.; Kieper W. C.; LeRoy E.; Sprent J. and Surh C. D. (2002) Interleukin (IL)-15 and IL-7 jointly regulate homeostatic proliferation of memory phenotype CD8+ cells but are not required for memory phenotype CD4+ cells. *J Exp Med.* **195** (12): 1523-32.
- [119] Fry T. J. and Mackall C. L. (2005) The many faces of IL-7: from lymphopoiesis to peripheral T cell maintenance. *J Immunol.* **174** (11): 6571-6.
- [120] Klonowski K. D.; Williams K. J.; Marzo A. L. and Lefrancois L. (2006) Cutting edge: IL-7-independent regulation of IL-7 receptor alpha expression and memory CD8 T cell development. *J Immunol.* **177** (7): 4247-4251.
- [121] Schluns K. S. and Lefrancois L. (2003) Cytokine control of memory T-cell development and survival. *Nat Rev Immunol.* **3** (4): 269-279.
- [122] Schmitt T. M.; de Pooter R. F.; Gronski M. A.; Cho S. K.; Ohashi P. S. and Zuniga-Pflucker J. C. (2004) Induction of T cell development and establishment of T cell competence from embryonic stem cells differentiated in vitro. *Nat Immunol.* **5** (4): 410-417.
- [123] Wherry E. J.; Ha S. J.; Kaech S. M.; Haining W. N.; Sarkar S.; Kalia V.; Subramaniam S.; Blattman J. N.; Barber D. L. and Ahmed R. (2007) Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity.* **27** (4): 670-84.
- [124] Alves N. L.; van Leeuwen E. M. M.; Derks I. A. M. and van Lier R. A. W. (2008) Differential regulation of human IL-7 receptor alpha expression by IL-7 and TCR signaling. *J Immunol.* **180** (8): 5201-5210.
- [125] Hammerbeck, C. D. and Mescher, M. F. (2008) Antigen controls IL-7R alpha expression levels on CD8 T cells during full activation or tolerance induction. *J Immunol.* **180** (4): 2107-2116.
- [126] Kaech S. M.; Tan J. T.; Wherry E. J.; Konieczny B. T.; Surh C. D. and Ahmed R. (2003) Selective expression of the interleukin 7 receptor identifies effector CD8 T cells that give rise to long-lived memory cells. *Nat Immunol.* **4** (12): 1191-1198.
- [127] Takada K. and Jameson S. C. (2009) Naive T cell homeostasis: from awareness of space to a sense of place. *Nat Rev Immunol.* **9** (12): 823-32.
- [128] Managlia, E. Z. and Landay, A. and Al-Harthi, L. (2005) Interleukin-7 signalling is sufficient to phenotypically and functionally prime human CD4(+) naive T cells. *Immunology.* **114** (3): 322-335.
- [129] Fluor, C. and De Mito, A. and Fry, T. J. and Vivar, N. and Eidsmo, L. and Atlas, A. and Federici, C. and Matarrese, P. and Logozzi, M. and Rajnavolgyi, E. and Mackall, C. L. and Fais, S. and Chiodi, F. (2007) Potential role for IL-7 in Fas-mediated T cell apoptosis during HIV infection. *J Immunol.* **178** (8): 5340-5350.
- [130] Jaleco, S.; Swainson, L.; Dardalhon, V.; Burjanadze, M.; Kinet, S. and Taylor, N. (2003) Homeostasis of naive and memory CD4(+) T cells: IL-2 and IL-7 differentially regulate the balance between proliferation and Fas-mediated apoptosis. *J Immunol.* **171** (1): 61-68.

- [131] Brenner D.; Krammer P. H. and Arnold R. (2008) Concepts of activated T cell death. *Crit Rev Oncol Hemat.* **66** (1): 52-64.
- [132] Singer A.; Park J. H.; Yu Q.; Erman B.; Appelbaum J. S.; Montoya-Durango D. and Grimes J. L. (2004) Suppression of IL7R alpha transcription by IL-7 and other prosurvival cytokines: A novel mechanism for maximizing IL-7-dependent T cell survival. *Immunity.* **21** (2): 289-302.
- [133] Swainson L.; Verhoeven E.; Cosset F. L. and Taylor N. (2006) IL-7R alpha gene expression is inversely correlated with cell cycle progression in IL-7-stimulated T lymphocytes. *J Immunol.* **176** (11): 6702-6708.
- [134] Vranjkovic A.; Crawley A. M.; Gee K.; Kumar A. and Angel J. B. (2007) IL-7 decreases IL-7 receptor alpha (CD127) expression and induces the shedding of CD127 by human CD8+ T cells. *Int Immunol.* **19** (12): 1329-39.
- [135] Baker, C. T. H.; Bocharov, G. A.; Paul, C. A. H. and Rihan, F. A. (1998) Modeling and analysis of time-lags in some basic patterns of cell proliferation. *J Math Biol.* **37** (4): 341-371.
- [136] Kronin, V.; Fitzmaurice, C. J.; Caminschi, I.; Shortman, K.; Jackson, D. C. and Brown, L. E. (2001) Differential effect of CD8(+) and CD8(-) dendritic cells in the stimulation of secondary CD4(+) T cells. *Int Immunol.* **13** (4): 465-473.
- [137] Smith, K. A. and Cantrell, D. A. (1985) Interleukin 2 regulates its own receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **82** (3): 864-8.
- [138] Xue, H. H.; Kovanen, P. E.; Pise-Masison, C. A.; Berg, M.; Radovich, M. F.; Brady, J. N. and Leonard, W. J. (2002) IL-2 negatively regulates IL-7 receptor alpha chain expression in activated T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **99** (21): 13759-64.
- [139] Osborne L. C. and Abraham N. (2010) Regulation of memory T cells by gamma c cytokines. *Cytokine.* **50** (2): 105-113.
- [140] Bouillet, P. and O'reilly, L. A. (2009) Cd95, Bim and T Cell Homeostasis. *Nat Rev Immunol.* **9** (7): 514-519.
- [141] Gatzka M. and Walsh C. M. (2007) Apoptotic signal transduction and T cell tolerance. *Autoimmunity.* **40** (6): 442-52.
- [142] Kennedy R. and Celis E. (2006) T helper lymphocytes rescue CTL from activation-induced cell death. *J Immunol.* **177** (5): 2862-72.
- [143] Ramaswamy M.; Cleland S. Y.; Cruz A. C. and Siegel R. M. (2009) Many checkpoints on the road to cell death: regulation of Fas-FasL interactions and Fas signaling in peripheral immune responses. *Results Probl Cell Differ.* **49**: 17-47.
- [144] Malorni W.; Giammarioli A. M.; Garofalo T. and Sorice M. (2007) Dynamics of lipid raft components during lymphocyte apoptosis: The paradigmatic role of GD3. *Apoptosis.* **12** (5): 941-949.
- [145] Becskei A. (2009) Linearization through distortion: a new facet of negative feedback in signalling. *Mol Sys Biol.* **5** (-): 477LM
- [146] Yu, R. C.; Pesce, C. G.; Colman-Lerner, A.; Lok, L.; Pincus, D.; Serra, E.; Holl, M.; Benjamin, K.; Gordon, A. and Brent, R. (2008) Negative feedback that improves information transmission in yeast signalling. *Nature.* **456** (7223): 755-761.
- [147] Nevozhay D.; Adams R. M.; Murphy K. F.; Josic K. and Balazsi G. (2009) Negative autoregulation linearizes the dose-response and suppresses the heterogeneity of gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **106** (13): 5123-5128.
- [148] Yu R. C.; Pesce C. G.; Colman-Lerner A.; Lok L.; Pincus D.; Serra E.; Holl M.; Benjamin K.; Gordon A. and Brent R. (2008) Negative feedback that improves information transmission in yeast signalling. *Nature.* **456** (7223): 755-61.
- [149] Kaminsky V. and Zhivotovsky B. (2010) To kill or be killed: how viruses interact with the cell death machinery. *J Intern Med.* **267** (5): 473-82.

- [150] He Y.; Xu K.; Keiner B.; Zhou J.; Czudai V.; Li T.; Chen Z.; Liu J.; Klenk H. D.; Shu Y. L. and Sun B. (2010) Influenza A virus replication induces cell cycle arrest in G0/G1 phase. *J Virol.* **84** (24): 12832-40.
- [151] Kim P. S.; Lee P. P. and Levy D. (2010) Emergent group dynamics governed by regulatory cells produce a robust primary T cell response. *Bull Math Biol.* **72** (3): 611-44.
- [152] Oswald E.; Nougayrede J. P.; Taieb F. and Sugai M. (2005) Bacterial toxins that modulate host cell-cycle progression. *Curr Opin Microbiol.* **8** (1): 83-91.
- [153] Albuquerque A. S.; Cortesao C. S.; Foxall R. B.; Soares R. S.; Victorino R. M. M. and Sousa A. E. (2007) Rate of increase in circulating IL-7 and loss of IL-7R alpha expression differ in HIV-1 and HIV-2 infections: Two lymphopenic disease with similar hyperimmune activation but distinct outcomes. *J Immunol.* **178** (5): 3252-3259.
- [154] Brown N. M.; Martin S. M.; Maurice N.; Kuwana T. and Knudson C. M. (2007) Caspase inhibition blocks cell death and results in cell cycle arrest in cytokine-deprived hematopoietic cells. *J Biol Chem.* **282** (4): 2144-2155.
- [155] Bosque A.; Aguilo J. I.; Del Rey M.; Paz-Artal E.; Allende L. M.; Naval J. and Anel A. (2008) Cell cycle regulation by FasL and Apo2L/TRAIL in human T-cell blasts. Implications for autoimmune lymphoproliferative syndromes. *J Leukocyte Biol.* **84** (2): 488-498.
- [156] White E. (1996) Life death and the pursuit of apoptosis. *Gene Dev.* **10** (1): 1-15.
- [157] Haaskogan D. A.; Kogan S. C.; Levi D.; Dazin P.; Tang A.; Fung Y. K. T. and Israel M. A. (1995) Inhibition of Apoptosis by the Retinoblastoma Gene-Product. *Embo J.* **14** (3): 461-472.
- [158] Janicke R. U.; Walker P. A.; Lin X. Y. and Porter A. G. (1996) Specific cleavage of the retinoblastoma protein by an ICE-like protease in apoptosis. *Embo J.* **15** (24): 6969-6978.
- [159] Huleatt J. W.; Cresswell J.; Bottomly K. and Crispe I. N. (2003) P27(kip1) regulates the cell cycle arrest and survival of activated T lymphocytes in response to interleukin-2 withdrawal. *Immunology.* **108** (4): 493-501.
- [160] Field S. J.; Tsai F. Y.; Kuo F.; Zubiaga A. M.; Kaelin W. G. Jr.; Livingston D. M.; Orkin S. H. and Greenberg M. E. (1996) E2F-1 functions in mice to promote apoptosis and suppress proliferation. *Cell.* **85** (4): 549-61.
- [161] Snow A. L.; Oliveira J. B.; Zheng L. X.; Dale J. K.; Fleisher T. A. and Lenardo M. J. (2008) Critical role for BIM in T cell receptor restimulation-induced death. *Biol Direct.* **3** (-): 345RI
- [162] Massague J. (2004) G1 cell-cycle control and cancer. *Nature.* **432** (7015): 298-306.
- [163] Duthoit, C. T. and Nguyen, P. and Geiger, T. L. (2004) Antigen nonspecific suppression of T cell responses by activated stimulation-refractory CD4(+) T cells. *J Immunol.* **172** (4): 2238-2246.
- [164] Liu S. X.; Bishop W. R. and Liu M. (2003) Differential effects of cell cycle regulatory protein p21(WAF1/Cip1) on apoptosis and sensitivity to cancer chemotherapy. *Drug Resist Update.* **6** (4): 183-195.
- [165] Bianchi, T. and Rufer, N. and MacDonald, H. R. and Migliaccio, M. (2006) The tumor suppressor p16(Ink4a) regulates T lymphocyte survival. *Oncogene.* **25** (29): 4110-4115.
- [166] Belz, G. T. and Masson, F. (2010) Interleukin-2 tickles T cell memory. *Immunity.* **32** (1): 7-9.
- [167] Lanzavecchia A. and Sallusto F. (2000) Dynamics of T lymphocyte responses: Intermediates effectors and memory cells. *Science.* **290** (5489): 92-97.
- [168] Sallusto F.; Geginat J. and Lanzavecchia A. (2004) Central memory and effector memory T cell subsets: function generation and maintenance. *Annu Rev Immunol.* **22** (745-63)

- [169] Sarkar S.; Teichgraber V.; Kalia V.; Polley A.; Masopust D.; Harrington L. E.; Ahmed R. and Wherry E. J. (2007) Strength of stimulus and clonal competition impact the rate of memory CD8 T cell differentiation. *J Immunol.* **179** (10): 6704-14.
- [170] Lanzavecchia A. and Sallusto F. (2002) Progressive differentiation and selection of the fittest in the immune response. *Nat Rev Immunol.* **2** (12): 982-7.
- [171] Chang J. T.; Palanivel V. R.; Kinjyo I.; Schambach F.; Intlekofer A. M.; Banerjee A.; Longworth S. A.; Vinup K. E.; Mrass P.; Oliaro J.; Killeen N.; Orange J. S.; Russell S. M.; Weninger W. and Reiner S. L. (2007) Asymmetric T lymphocyte division in the initiation of adaptive immune responses. *Science.* **315** (5819): 1687-1691.
- [172] Gerlach C.; van Heijst J. W. J.; Swart E.; Sie D.; Armstrong N.; Kerkhoven R. M.; Zehn D.; Bevan M. J.; Schepers K. and Schumacher T. N. M. (2010) One naive T cell multiple fates in CD8(+) T cell differentiation. *J Exp Med.* **207** (6): 1235-1246.
- [173] Stemmerger C.; Neuenhahn M.; Buchholz V. R. and Busch D. H. (2007) Origin of CD8+ effector and memory T cell subsets. *Cell Mol Immunol.* **4** (6): 399-405.
- [174] Russell S. M. (2008) Determination of T-cell fate by dendritic cells: a new role for asymmetric cell division?. *Immunol Cell Biol.* **86** (5): 423-427.
- [175] Teixeira E.; Daniels M. A.; Hamilton S. E.; Schrum A. G.; Bragado R.; Jameson S. C. and Palmer E. (2009) Different T cell receptor signals determine CD8+ memory versus effector development. *Science.* **323** (5913): 502-5.
- [176] Congdon K. L. and Reya T. (2008) Divide and conquer: how asymmetric division shapes cell fate in the hematopoietic system. *Curr Opin Immunol.* **20** (3): 302-307.
- [177] Stemmerger C.; Neuenhahn M.; Gebhardt F. E.; Schiemann M.; Buchholz V. R. and Busch D. H. (2009) Stem cell-like plasticity of naive and distinct memory CD8(+) T cell subsets. *Semin Immunol.* **21** (2): 62-68.
- [178] Chang, J. T. and Ciocca, M. L. and Kinjyo, I. and Palanivel, V. R. and McClurkin, C. E. and De Jong, C. S. and Mooney, E. C. and Kim, J. S. and Stein, N. C. and Oliaro, J. and Yin, C. C. and Florea, B. I. (2011) Asymmetric Proteasome Segregation as a Mechanism for Unequal Partitioning of the Transcription Factor T-bet during T Lymphocyte Division. *Immunity.* **34** (4): 492-504.
- [179] Geginat J.; Sallusto F. and Lanzavecchia A. (2001) Cytokine-driven proliferation and differentiation of human naive central memory and effector memory CD4(+) T cells. *J Exp Med.* **194** (12): 1711-9.
- [180] Bosque A.; Marzo I.; Naval J. and Anel A. (2007) Apoptosis by IL-2 deprivation in human CD8(+) T cell blasts predominates over death receptor ligation requires Bim expression and is associated with Mcl-1 loss. *Mol Immunol.* **44** (6): 1446-1453.
- [181] Precopio M. L.; Sullivan J. L.; Willard C.; Somasundaran M. and Luzuriaga K. (2003) Differential kinetics and specificity of EBV-specific CD4(+) and CD8(+) T cells during primary infection. *J Immunol.* **170** (5): 2590-2598.
- [182] Jaleco S.; Swainson L.; Dardalhon V.; Burjanadze M.; Kinet S. and Taylor N. (2003) Homeostasis of naive and memory CD4(+) T cells: IL-2 and IL-7 differentially regulate the balance between proliferation and Fas-mediated apoptosis. *J Immunol.* **171** (1): 61-68.
- [183] Obar J. J.; Molloy M. J.; Jellison E. R.; Stoklasek T. A.; Zhang W. J.; Usherwood E. J. and Lefrancois L. (2010) CD4(+) T cell regulation of CD25 expression controls development of short-lived effector CD8(+) T cells in primary and secondary responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **107** (1): 193-198.
- [184] Laouar A.; Manocha M.; Haridas V. and Manjunath N. (2008) Concurrent Generation of Effector and Central Memory CD8 T Cells during Vaccinia Virus Infection. *Plos One.* **3** (12): -.

- [185] Obar J. J. and Lefrancois L. (2010) Early Signals during CD8(+) T Cell Priming Regulate the Generation of Central Memory Cells. *J Immunol.* **185** (1): 263-272.
- [186] Badovinac V. P.; Porter B. B. and Harty J. T. (2004) CD8(+) T cell contraction is controlled by early inflammation. *Nat Immunol.* **5** (8): 809-817.
- [187] Grossman Z.; Min B.; Meier-Schellersheim M. and Paul W. E. (2004) Concomitant regulation of T-cell activation and homeostasis. *Nat Rev Immunol.* **4** (5): 387-95.
- [188] Farber D. L. (1998) Differential TCR signaling and the generation of memory T cells. *J Immunol.* **160** (2): 535-9.
- [189] Van Parijs L. and Abbas A. K. (1998) Homeostasis and self-tolerance in the immune system: Turning lymphocytes off. *Science.* **280** (5361): 243-248.
- [190] Luu R. A.; Gurnani K.; Dudani R.; Kammara R.; van Faassen H.; Sirard J. C.; Krishnan L. and Sad S. (2006) Delayed expansion and contraction of CD8(+) T cell response during infection with virulent *Salmonella typhimurium*. *J Immunol.* **177** (3): 1516-1525.
- [191] Seder R. A. and Ahmed R. (2003) Similarities and differences in CD4(+) and CD8(+) effector and memory T cell generation. *Nat Immunol.* **4** (9): 835-842.
- [192] Jameson S. C. (2002) Maintaining the norm: T-CELL homeostasis. *Nat Rev Immunol.* **2** (8): 547-556.
- [193] Seder R. A.; Darrah P. A. and Roederer M. (2008) T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design (vol 8 pg 247 2008). *Nat Rev Immunol.* **8** (6): -.
- [194] Harty J. T. and Badovinac V. P. (2008) Shaping and reshaping CD8(+) T-cell memory. *Nat Rev Immunol.* **8** (2): 107-119.
- [195] Hu H.; Huston G.; Duso D.; Lepak N.; Roman E. and Swain S. L. (2001) CD4(+) T cell effectors can become memory cells with high efficiency and without further division. *Nat Immunol.* **2** (8): 705-710.
- [196] Bannard O.; Kraman M. and Fearon D. T. (2009) Secondary replicative function of CD8+ T cells that had developed an effector phenotype. *Science.* **323** (5913): 505-9.
- [197] Badovinac V. P. and Harty J. T. (2007) Manipulating the rate of memory CD8(+) T cell generation after acute infection. *J Immunol.* **179** (1): 53-63.
- [198] Moulton V. R.; Bushar N. D.; Leiser D. B.; Patke D. S. and Farber D. L. (2006) Divergent generation of heterogeneous memory CD4 T cells. *J Immunol.* **177** (2): 869-876.
- [199] Harrington L. E.; Janowski K. M.; Oliver J. R.; Zajac A. J. and Weaver C. T. (2008) Memory CD4 T cells emerge from effector T-cell progenitors. *Nature.* **452** (7185): 356-60.
- [200] Prlic M. and Bevan M. J. (2008) Exploring regulatory mechanisms of CD8+ T cell contraction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **105** (43): 16689-94.
- [201] Lazebnik Y. (2002) Can a biologist fix a radio? Or what I learned while studying apoptosis. *Cancer Cell.* **2** (3): 179-182.
- [202] Schaft A. J. van der and Schumacher J. M. (2000) *An introduction to hybrid dynamical systems*. Springer. London; New York.
- [203] Johansson, K. H. and Lygeros, J. and Zhang, J. and Sastry, S. (2000) Hybrid automata: A formal paradigm for heterogeneous modeling. *Proceedings of the 2000 IEEE International Symposium on Computer-Aided Control System Design*.
- [204] Busch D. H.; Pilip I. M.; Vijn S. and Palmer E. G. (1998) Coordinate regulation of complex T cell populations responding to bacterial infection. *Immunity.* **8** (3): 353-362.
- [205] Murali-Krishna, K.; Altman, J. D.; Suresh, M.; Sourdive, D. J. D.; Zajac, A. J.; Miller, J. D.; Slansky, J. and Ahmed, R. (1998) Counting antigen-specific CD8 T

- cells: A reevaluation of bystander activation during viral infection. *Immunity*. **8** (2): 177-187.
- [206] Peixoto A.; Evaristo C.; Munitic I.; Monteiro M.; Charbit A.; Rocha B. and Veiga-Fernandes H. (2007) CD8 single-cell gene coexpression reveals three different effector types present at distinct phases of the immune response. *J Exp Med*. **204** (5): 1193-1205.
- [207] Antia R.; Bergstrom C. T.; Pilyugin S. S.; Kaech S. M. and Ahmed R. (2003) Models of CD8+responses: 1. What is the antigen-independent proliferation program. *J Theor Biol*. **221** (4): 585-598.
- [208] Kot Mark (2001) *Elements of mathematical ecology*. Cambridge university press. Cambridge.
- [209] Vandermeer John H. and Goldberg Deborah Esther (2003) *Population ecology first principles*. Princeton university press. Princeton N.J. Oxford.
- [210] Begon, Michael; Townsend, Colin R. and Harper, John L. (2006) *Ecology : from individuals to ecosystems*. Blackwell Pub. Malden, MA.
- [211] Novozhilov A. S.; Berezovskaya F. S.; Koonin E. V. and Karev G. P. (2006) Mathematical modeling of tumor therapy with oncolytic viruses: Regimes with complete tumor elimination within the framework of deterministic models. *Biol Direct*. **1** (-): 133SA
- [212] Tuckwell H. C. and Wan F. Y. M. (2004) On the behavior of solutions in viral dynamical models. *Biosystems*. **73** (3): 157-161.
- [213] Rouzine I. M.; Murali-Krishna K. A. and Ahmed R. (2005) Generals die in friendly fire or modeling immune response to HIV. *J Comput Appl Math*. **184** (1): 258-274.
- [214] Iwasa Y.; Michor F. and Nowak M. (2004) Some basic properties of immune selection. *J Theor Biol*. **229** (2): 179-188.
- [215] Bocharov G.; Ludewig B.; Bertoletti A.; Klennerman P.; Junt T.; Krebs P.; Luzyanina T.; Fraser C. and Anderson R. M. (2004) Underwhelming the immune response: Effect of slow virus growth on CD8(+)-T-lymphocyte responses. *J Virol*. **78** (5): 2247-2254.
- [216] Reibnegger G.; Fuchs D.; Hausen A.; Werner E. R.; Wernerfelmayr G.; Die-rich M. P. and Wachter H. (1989) Stability Analysis of Simple-Models for Immune Cells Interacting with Normal Pathogens and Immune-System Retroviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **86** (6): 2026-2030.
- [217] Wong P. and Pamer E. G. (2001) Cutting edge: Antigen-independent CD8 T cell proliferation. *J Immunol*. **166** (10): 5864-5868.
- [218] van Stipdonk M. J. B.; Lemmens E. E. and Schoenberger S. P. (2001) Naive CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation. *Nat Immunol*. **2** (5): 423-429.
- [219] Antia R.; Ganusov V. V. and Ahmed R. (2005) The role of models in understanding CD8(+) T-cell memory. *Nat Rev Immunol*. **5** (2): 101-111.
- [220] Wilson, E. O. (1976) Organization of Colony Defense in Ant Pheidole-Dentata Mayr (Hymenoptera-Formicidae) *Behavioral Ecology and Sociobiology*. **1** (1): 63-81.
- [221] Patke D. S. and Farber D. L. (2005) Modulation of memory CD4 T cell function and survival potential by altering the strength of the recall stimulus. *J Immunol*. **174** (9): 5433-5443.
- [222] Fazekas de St Groth B.; Smith A. L. and Higgins C. A. (2004) T cell activation: in vivo veritas. *Immunol Cell Biol*. **82** (3): 260-268.
- [223] Lanzavecchia A. and Sallusto F. (2001) The instructive role of dendritic cells on T cell responses: lineages plasticity and kinetics. *Curr Opin Immunol*. **13** (3): 291-298.

- [224] Masopust D.; Kaech S. M.; Wherry E. J. and Ahmed R. (2004) The role of programming in memory T-cell development. *Curr Opin Immunol.* **16** (2): 217-25.
- [225] Zehn D.; Lee S. Y. and Bevan M. J. (2009) Complete but curtailed T-cell response to very low-affinity antigen. *Nature.* **458** (7235): 211-214.
- [226] van den Berg H. A. and Rand D. A. (2007) Quantitative theories of T-cell responsiveness. *Immunol Rev.* **216**: 81-92.
- [227] Acuto O.; Di Bartolo V. and Michel F. (2008) Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms. *Nat Rev Immunol.* **8** (9): 699-712.
- [228] van Stipdonk M. J. B.; Hardenberg G.; Bijker M. S.; Lemmens E. E.; Droin N. M.; Green D. R. and Schoenberger S. P. (2003) Dynamic programming of CD8(+) T lymphocyte responses. *Nat Immunol.* **4** (4): 361-365.
- [229] Hommel M. (2004) On the dynamics of T-cell activation in lymph nodes. *Immunol Cell Biol.* **82** (1): 62-66.
- [230] Honunel M. and Hodgkin P. D. (2007) TCR affinity promotes CD8(+) T cell expansion by regulating survival. *J Immunol.* **179** (4): 2250-2260.
- [231] Schrum A. G.; Turka L. A. and Palmer E. (2003) Surface T-cell antigen receptor expression and availability for long-term antigenic signaling. *Immunol Rev.* **196** (1): 7-24.
- [232] Patke D. S. and Farber D. L. (2005) Modulation of memory CD4 T cell function and survival potential by altering the strength of the recall stimulus. *J Immunol.* **174** (9): 5433-43.
- [233] Sad S.; Dudani R.; Gurnani K.; Russell M.; van Faassen H.; Finlay B. and Krishnan L. (2008) Pathogen proliferation governs the magnitude but compromises the function of CD8 T cells. *J Immunol.* **180** (9): 5853-61.
- [234] Kepp, O.; Senovilla, L.; Galluzzi, L.; Panaretakis, T.; Tesniere, A.; Schlemmer, F.; Madeo, F.; Zitvogel, L.; Kroemer, G. (2009) Viral subversion of immunogenic cell death. *Cell Cycle.* **8** (6): 860-9.
- [235] Klenerman, P. and Hill, A. (2005) T cells and viral persistence: lessons from diverse infections. *Nat Immunol.* **6** (9): 873-879.
- [236] Davenport, M. P.; Belz, G. T.; Ribeiro, R. M. (2009) The race between infection and immunity: how do pathogens set the pace?. *Trends Immunol.* **30** (2): 61-66.
- [237] Davenport, M. P. and Ribeiro, R. M. and Perelson, A. S. (2004) Kinetics of virus-specific CD8(+) T cells and the control of human immunodeficiency virus infection. *J Virol.* **78** (18): 10096-10103.
- [238] Glynn, S. A. and Wright, D. J. and Kleinman, S. H. and Hirschhorn, D. and Tu, Y. and Heldebrandt, C. and Smith, R. and Giachetti, C. and Gallarda, J. and Busch, M. P. (2005) Dynamics of viremia in early hepatitis C virus infection. *Transfusion.* **45** (6): 994-1002.
- [239] Komiya, Y. and Katayama, K. and Yugi, H. and Mizui, M. and Matsukura, H. and Tomoguri, T. and Miyakawa, Y. and Tabuchi, A. and Tanaka, J. and Yoshizawa, H. (2008) Minimum infectious dose of hepatitis B virus in chimpanzees and difference in the dynamics of viremia between genotype A and genotype C. *Transfusion.* **48** (2): 286-294.
- [240] Yoshikawa, A. and Gotanda, Y. and Itabashi, M. and Mingishi, K. and Kanemitsu, K. and Nishioka, K. and R, Japanese Red Cross NAT Screening (2005) Hepatitis B NAT virus-positive blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sanguinis.* **88** (2): 77-86.
- [241] van Zandbergen, G.; Luder, C. G.; Heussler, V. and Duszenko, M. (2010) Programmed cell death in unicellular parasites: a prerequisite for sustained infection?. *Trends Parasitol.* **26** (10): 477-83.



- [242] Reiley, W. W.; Calayag, M. D.; Wittmer, S. T.; Huntington, J. L.; Pearl, J. E.; Fountain, J. J.; Martino, C. A.; Roberts, A. D.; Cooper, A. M.; Winslow, G. M. and Woodland, D. L. (2008) ESAT-6-specific CD4 T cell responses to aerosol Mycobacterium tuberculosis infection are initiated in the mediastinal lymph nodes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **105** (31): 10961-10966.
- [243] Winslow, G. M.; Cooper, A.; Reiley, W.; Chatterjee, M. and Woodland, D. L. (2008) Early T-cell responses in tuberculosis immunity. *Immunol Rev.* **225**:284-299.
- [244] Abbas, Abul K.; Lichtman, Andrew H. and Pillai, Shiv (2007) *Cellular and molecular immunology*. Saunders Elsevier. Philadelphia.
- [245] Liston, A.; Lesage, S.; Wilson, J.; Peltonen, L. and Goodnow, C. C. (2003) Aire regulates negative selection of organ-specific T cells. *Nat Immunol.* **4** (4): 350-354.
- [246] Ferguson, B. J.; Cooke, A.; Peterson, P. and Rich, T. (2008) Death in the AIRE. *Trends Immunol.* **29** (7): 306-312.
- [247] Mathis, D. and Benoist, C. (2007) A decade of AIRE. *Nat Rev Immunol.* **7** (8): 645-650.
- [248] Labrecque, N.; Baldwin, T. and Lesage, S. (2011) Molecular and genetic parameters defining T-cell clonal selection. *Immunol Cell Biol.* **89** (1): 16-26.
- [249] von Boehmer, H. and Melchers, F. (2010) Checkpoints in lymphocyte development and autoimmune disease. *Nat Immunol.* **11** (1): 14-20.
- [250] Walker L. S. K. and Abbas A. K. (2002) The enemy within: Keeping self-reactive T cells at bay in the periphery. *Nat Rev Immunol.* **2** (1): 11-19.
- [251] Tang, Q. and Bluestone, J. A. (2006) Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. *Immunol Rev.* **212**:217-37.
- [252] Miyara, M. and Sakaguchi, S. (2007) Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med.* **13** (3): 108-16.
- [253] Maloy, K. J. and Powrie, F. (2001) Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol.* **2** (9): 816-22.
- [254] Hugues S. (2010) Dynamics of dendritic cell-T cell interactions: a role in T cell outcome. *Semin Immunopathol.* **32** (3): 227-38.
- [255] Hawiger D.; Inaba K.; Dorsett Y.; Guo M.; Mahnke K.; Rivera M.; Ravetch J. V.; Steinman R. M. and Nussenzweig M. C. (2001) Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. *J Exp Med.* **194** (6): 769-779.
- [256] Probst H. C.; Lagnel J.; Kollias G. and van den Broek M. (2003) Inducible transgenic mice reveal resting dendritic cells as potent inducers of CD8(+) T cell tolerance. *Immunity.* **18** (5): 713-720.
- [257] Sakaguchi, S. (2004) Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol.* **22**:531-62.
- [258] Kern, M. and Popov, A. and Kurts, C. and Schultze, J. L. and Knolle, P. A. (2010) Taking off the brakes: T cell immunity in the liver. *Trends Immunol.* **31** (8): 311-7.
- [259] Lu, B. and Finn, O. J. (2008) T-cell death and cancer immune tolerance. *Cell Death Differ.* **15** (1): 70-9.
- [260] Ullrich, E.; Bonmort, M.; Mignot, G.; Kroemer, G. and Zitvogel, L. (2008) Tumor stress, cell death and the ensuing immune response. *Cell Death Differ.* **15** (1): 21-8.
- [261] Pellettieri, J. and Sanchez Alvarado, A. (2007) Cell turnover and adult tissue homeostasis: from humans to planarians. *Annu Rev Genet.* **41**: 83-105.
- [262] Yi, C. H. and Yuan, J. (2009) The Jekyll and Hyde functions of caspases. *Dev Cell.* **16**(1): 21-34.

- [263] Fan, Y. and Bergmann, A. (2008) Apoptosis-induced compensatory proliferation. The Cell is dead. Long live the Cell! *Trends Cell Biol.* **18**(10): 467-73.
- [264] Maynard Smith, John (1974) *Models in ecology*. University Press. Cambridge.
- [265] Freitas A. A. and Rocha B. (2000) Population biology of lymphocytes: the flight for survival. *Annu Rev Immunol.* **18**:(83-111)
- [266] Naumova, E. N.; Gorski, J. and Naumov, Y. N. (2009) Two Compensatory Pathways Maintain Long-Term Stability and Diversity in CD8 T Cell Memory Repertoires. *J Immunol.* **183** (4): 2851-2858.
- [267] Goldrath, A. W.; Bogatzki, L. Y. and Bevan, M. J. (2000) Naive T cells transiently acquire a memory-like phenotype during homeostasis-driven proliferation. *J Exp Med.* **192** (4): 557-564.
- [268] Aggarwal S. and Gupta S. (1998) Increased apoptosis of T cell subsets in aging humans: Altered expression of Fas (CD95) Fas ligand Bcl-2 and Bax. *J Immunol.* **160** (4): 1627-1637.
- [269] Stockinger B.; Kassiotis G. and Bourgeois C. (2004) Homeostasis and T cell regulation. *Curr Opin Immunol.* **16** (6): 775-779.
- [270] King C.; Ilic A.; Koelsch K. and Sarvetnick N. (2004) Homeostatic expansion of T cells during immune insufficiency generates autoimmunity. *Cell.* **117** (2): 265-277.
- [271] Jameson, S. C. and Masopust, D. (2009) Diversity in T Cell Memory: An Embarrassment of Riches. *Immunity.* **31** (6): 859-871.
- [272] Murali-Krishna K. and Ahmed R. (2000) Cutting edge: Naive T cells masquerading as memory cells. *J Immunol.* **165** (4): 1733-1737.
- [273] Cho B. K.; Rao V. P.; Ge Q.; Eisen H. N. and Chen J. Z. (2000) Homeostasis-stimulated proliferation drives naive T cells to differentiate directly into memory T cells. *J Exp Med.* **192** (4): 549-556.
- [274] Min B.; Yamane H.; Hu-Li J. and Paul W. E. (2005) Spontaneous and homeostatic proliferation of CD4 T cells are regulated by different mechanisms. *J Immunol.* **174** (10): 6039-44.
- [275] Goldrath A. W.; Luckey C. J.; Park R.; Benoist C. and Mathis D. (2004) The molecular program induced in T cells undergoing homeostatic proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **101** (48): 16885-16890.
- [276] Hasbold J.; Gett A. V.; Deenick E.; Avery D.; Jun J. and Hodgkin P. D. (1999) Quantitative analysis of lymphocyte differentiation and proliferation in vitro using carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester. *Immunol Cell Biol.* **77** (6): 516-522.
- [277] Cohn, M. and Mata, J. (2007) Quantitative modeling of immune responses. *Immunol Rev.* **216**:5-8.
- [278] Naumov Y. N.; Naumova E. N.; Clute S. C.; Watkin L. B.; Kota K.; Gorski J. and Selin L. K. (2006) Complex T cell memory repertoires participate in recall responses at extremes of antigenic load. *J Immunol.* **177** (3): 2006-2014.
- [279] Rapin N.; Kesmir C.; Frankild S.; Nielsen M.; Lundegaard C.; Brunak S. and Lund O. (2006) Modelling the human immune system by combining bioinformatics and systems biology approaches. *J Biol Phys.* **32** (3-4): 335-353.
- [280] Mahajan V. S.; Leskov I. B. and Chen J. Z. (2005) Homeostasis of T cell diversity. *Cell Mol Immunol.* **2** (1): 1-10.
- [281] Masopust D.; Ha S. J.; Vezys V. and Ahmed R. (2006) Stimulation history dictates memory CD8 T cell phenotype: Implications for prime-boost vaccination. *J Immunol.* **177** (2): 831-839.
- [282] Prlic M.; Williams M. A. and Bevan M. J. (2007) Requirements for CD8 T-cell priming memory generation and maintenance. *Curr Opin Immunol.* **19** (3): 315-9.
- [283] Crotty S. and Ahmed R. (2004) Immunological memory in humans. *Semin Immunol.* **16** (3): 197-203.

- [284] Troy A. E. and Shen H. (2003) Homeostatic proliferation of peripheral T lymphocytes is regulated by clonal competition. *Faseb Journal*. **17** (7): C240-C241.
- [285] Marrack P.; Bender J.; Hildeman D.; Jordan M.; Mitchell T.; Murakami M.; Sakamoto A.; Schaefer B. C.; Swanson B. and Kappler J. (2000) Homeostasis of alpha beta TCR+ T cells. *Nat Immunol*. **1** (2): 107-111.
- [286] Fry T. J.; Connick E.; Falloon J.; Lederman M. M.; Liewehr D. J.; Spritzler J.; Steinberg S. M.; Wood L. V.; Yarchoan R.; Zuckerman J.; Landay A. and Mackall C. L. (2001) A potential role for interleukin-7 in T-cell homeostasis. *Blood*. **97** (10): 2983-2990.
- [287] Sawa, Y. and Arima, Y.; Ogura, H.; Kitabayashi, C.; Jiang, J. J.; Fukushima, T.; Kamimura, D.; Hirano, T. and Murakami, M. (2009) Hepatic Interleukin-7 Expression Regulates T Cell Responses. *Immunity*. **30** (3): 447-457.
- [288] Geginat J.; Lanzavecchia A. and Sallusto F. (2003) Proliferation and differentiation potential of human CD8+ memory T-cell subsets in response to antigen or homeostatic cytokines. *Blood*. **101** (11): 4260-6.
- [289] Stockinger B.; Barthlott T. and Kasisiotis G. (2004) The concept of space and competition in immune regulation. *Immunology*. **111** (3): 241-247.
- [290] Surh C. D. and Sprent J. (2005) Regulation of mature T cell homeostasis. *Semin Immunol*. **17** (3): 183-191.
- [291] Ku C. C.; Murakami M.; Sakamoto A.; Kappler J. and Marrack P. (2000) Control of homeostasis of CD8(+) memory T cells by opposing cytokines. *Science*. **288** (5466): 675-678.
- [292] Henrickson S. E. and von Andrian U. H. (2007) Single-cell dynamics of T-cell priming. *Curr Opin Immunol*. **19** (3): 249-58.
- [293] Seddon B. and Zamoyska R. (2002) TCR and IL-7 receptor signals can operate independently or synergize to promote lymphopenia-induced expansion of naive T cells. *J Immunol*. **169** (7): 3752-3759.
- [294] Fry T. J.; Moniuszko M.; Creekmore S.; Donohue S. J.; Douek D. C.; Giardina S.; Hecht T. T.; Hill B. J.; Komschlies K.; Tomaszewski J.; Franchini G. and Mackall C. L. (2003) IL-7 therapy dramatically alters peripheral T-cell homeostasis in normal and SIV-infected nonhuman primates. *Blood*. **101** (6): 2294-9.
- [295] Cushing, J. M. and Levarge, S. and Chitnis, N. and Henson, S. M. (2004) Some discrete competition models and the competitive exclusion principle. *J Differ Equ Appl*. **10** (13-15): 1139-1151.
- [296] Hernandez-Garcia, E. and Lopez, C. and Pigolotti, S. and Andersen, K. H. (2009) Species competition: coexistence, exclusion and clustering. *Philos T R Soc A*. **367** (1901): 3183-3195.
- [297] Scheffer, M. and van Nes, E. H. (2006) Self-organized similarity, the evolutionary emergence of groups of similar species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **103** (16): 6230-6235.
- [298] de Boer R. J. and Perelson A. S. (1994) T-Cell Repertoires and Competitive-Exclusion. *J Theor Biol*. **169** (4): 375-390.
- [299] McNally, J. M. and Zarozinski, C. C. and Lin, M. Y. and Brehm, M. A. and Chen, H. D. and Welsh, R. M. (2001) Attrition of bystander CD8 T cells during virus-induced T-cell and interferon responses. *J Virol*. **75** (13): 5965-5976.
- [300] Selin L. K.; Lin M. Y.; Kraemer K. A.; Pardoll D. M.; Schneek J. P.; Varga S. M.; Santolucito P. A.; Pinto A. K. and Welsh R. M. (1999) Attrition of T cell memory: Selective loss of LCMV epitope-specific memory CD8 T cells following infections with heterologous viruses. *Immunity*. **11** (6): 733-742.
- [301] Welsh R. M.; Selin L. K. and Szomolanyi-Tsuda E. (2004) Immunological memory to viral infections. *Annu Rev Immunol*. **22**: 711-743.

- [302] Barouch, D. H.; Letvin, N. L. and Seder, R. A. (2004) The role of cytokine DNAs as vaccine adjuvants for optimizing cellular immune responses. *Immunol Rev.* **202**:266-74.
- [303] Johansen, P. and Storni, T.; Rettig, L.; Qiu, Z. Y.; Der-Sarkissian, A.; Smith, K. A.; Manolova, V.; Lang, K. S.; Senti, G.; Mullhaupt, B.; Gerlach, T.; Speck, R. F. and Bot, A. (2008) Antigen kinetics determines immune reactivity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **105** (13): 5189-5194.
- [304] Takeda, K.; Kaisho, T. and Akira, S. (2003) Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* **21**:335-376.
- [305] Ahlers, J. D. and Belyakov, I. M. (2010) Memories that last forever: strategies for optimizing vaccine T-cell memory. *Blood.* **115** (9): 1678-1689.
- [306] Trumpfheller, C.; Longhi, M. P.; Caskey, M.; Idoyaga, J.; Bozzacco, L.; Keler, T.; Schlesinger, S. J. and Steinman, R. M. (2012) Dendritic cell-targeted protein vaccines: a novel approach to induce T-cell immunity. *J Intern Med.* **271** (2): 183-192.
- [307] Nanjappa, S. G. and Walent, J. H. and Morre, M. and Suresh, M. (2008) Effects of IL-7 on memory CD8(+) T cell homeostasis are influenced by the timing of therapy in mice. *J Clin Inv.* **118** (3): 1027-1039.
- [308] Melchionda, F. and Fry, T. J.; Milliron, M. J.; McKirdy, M. A.; Tagaya, Y. and Mackall, C. L. (2005) Adjuvant IL-7 or IL-15 overcomes immunodominance and improves survival of the CD8(+) memory cell pool. *J Clin Inv.* **115** (5): 1177-1187.
- [309] Fazilleau N.; Eisenbraun M. D.; Malherbe L.; Ebright J. N.; Pogue-Caley R. R.; McHeyzer-Williams L. J. and McHeyzer-Williams M. G. (2007) Lymphoid reservoirs of antigen-specific memory T helper cells. *Nat Immunol.* **8** (7): 753-761.
- [310] Assarsson E.; Sidney J.; Oseroff C.; Pasquetto V.; Bui H. H.; Frahm N.; Brander C.; Peters B.; Grey H. and Sette A. (2007) A quantitative analysis of the variables affecting the repertoire of T cell specificities recognized after vaccinia virus infection. *J Immunol.* **178** (12): 7890-901.
- [311] Savage, P. A.; Boniface, J. J. and Davis, M. M. (1999) A kinetic basis for T cell receptor repertoire selection during an immune response. *Immunity.* **10** (4): 485-492.
- [312] Weaver J. M. and Sant A. J. (2009) Understanding the focused CD4 T cell response to antigen and pathogenic organisms. *Immunol Res.* **45** (2-3): 123-143.
- [313] Kim, P. S.; Lee, P. P. and Levy, D. (2011) A theory of immunodominance and adaptive regulation. *Bull Math Biol.* **73** (7): 1645-65.
- [314] Turner S. J.; La Gruta N. L.; Kedzierska K.; Thomas P. G. and Doherty P. C. (2009) Functional implications of T cell receptor diversity. *Curr Opin Immunol.* **21** (3): 286-290.
- [315] Remakus, S. and Sigal, L. J. (2011) Gamma Interferon and Perforin Control the Strength, but Not the Hierarchy, of Immunodominance of an Antiviral CD8(+) T Cell Response. *J Virol.* **85** (23): 12578-12584.
- [316] Handel, A. and Antia, R. (2008) A simple mathematical model helps to explain the immunodominance of CD8 T cells in influenza A virus infections. *J Virol.* **82** (16): 7768-7772.
- [317] Wu, Y. and Xia, L. J. and Zhang, M. J. and Zhao, X. P. (2010) Immunodominance analysis through interactions of CD8(+) T cells and DCs in lymph nodes. *Math Biosci.* **225** (1): 53-58.
- [318] Zhao, X. P. and Yang, R. T. and Zhang, M. J. (2009) A Shooting Algorithm for Complex Immunodominance Control Problems. *Embc: 2009 Annual International Conference of the Ieee Engineering in Medicine and Biology Society, Vols 1-20*:3897-3900.
- [319] May, R. M. (2004) Uses and abuses of mathematics in biology. *Science.* **303** (5659): 790-793.
- [320] Badovinac V. P.; Porter B. B. and Harty J. T. (2002) Programmed contraction of CD8(+) T cells after infection. *Nat Immunol.* **3** (7): 619-26.

